

Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. med. Pospisil

Arbeitsgruppe: Professor Dr. med. H.J. Merker

**NORMALE ENTWICKLUNG DES CEREBELLUMS
BEI RATTENEMBRYONEN VON TAG 12 BIS TAG 20
UND IHRE BEEINFLUSSUNG DURCH 6-MERKAPTOPURIN**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Karl Wagner

aus Aalen/Krs. Aalen

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. med. Pospisil

Arbeitsgruppe: Professor Dr. med. H.J. Merker

NORMALE ENTWICKLUNG DES CEREBELLUMS BEI RATTENEMBRYONEN
VON TAG 12 BIS TAG 20 UND IHRE BEEINFLUSSUNG DURCH
6-MERKAPTOPURIN

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den Medizinischen Fachbereichen

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Karl Wagner

aus Aalen/Krs. Aalen

Referent: Professor Dr. med. H.J. Merker
Korreferent: Professor Dr. med. J. Cervós-Navarro



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 10.12.1976

Herrn Professor Dr. med. H.-J. Merker danke ich herzlich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die wertvolle Führung durch diese Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Assistenz-Prof. Dr. med. H. Adhami, der mir mit Rat und Tat freundschaftlich zur Seite stand.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
EINLEITUNG	5
MATERIAL UND METHODE	14
ERGEBNISSE	
Normale Cerebellumentwicklung	15
Durch 6-MP gestörte Cerebellumentwicklung	20
Übersicht über die normale Cerebellum- entwicklung	24
Übersicht über die durch 6-MP gestörte Cerebellumentwicklung	26
DISKUSSION	28
ZUSAMMENFASSUNG	39
LITERATURVERZEICHNIS	41
Bildtafeln 1 bis 18	52

EINLEITUNG

Die klassische Theorie der Histogenese des Zentralnervensystems geht auf W. His (1889) zurück. His unterscheidet an der Neuralröhre drei verschiedene Zonen. Die innerste Zone, die sogenannte Ependymschicht, besteht nach ihm aus zwei verschiedenen Zelltypen, die sich in ihrer Morphologie und prognostischen Potenz unterscheiden. Aus großen, runden Zellen, den sog. Germinalzellen, welche oft Mitosefiguren zeigen, sollen Neuroblasten entstehen, während sich die zylindrischen Epithelzellen zu Spongioblasten entwickeln, aus welchen die Glia hervorgeht. Demnach besteht die Ependymschicht aus einem mehrreihigen Zellverband mit zwei verschiedenen Grundzelltypen. Die sich nach außen anschließende Marginalzone besteht nach His aus den Axonen der Neuroblasten.

Gegen diese Theorie sind verschiedene Zweifel laut geworden. Nach Schaper (1897) sind Germinalzellen und Epithelzellen miteinander identisch und stellen nur verschiedene Entwicklungsstadien ein und derselben Zelle dar. Germinalzellen sind sich teilende Epithelzellen. Aus den sich teilenden Epithelzellen entstehen indifferente Zellen, die zu Neuroblasten oder Spongioblasten werden können.

Nach Sauer (1935a/1935b) besteht die Ventrikelwand im frühen Entwicklungsstadium aus einem einheitlichen Zellverband. Die Neuroepithelzellen sind durch zwei Fortsätze mit dem Ventrikellumen und mit der angrenzenden Pia (Membrana Limitans externa) verbunden. Die Kerne der Epithelzellen vollziehen während des Zellzyklusses eine Wanderung, dergestalt, daß die Mitose lumennahe stattfindet.

Diese Theorie konnte durch autoradiographische Untersuchungen bestätigt und erweitert werden.

Im frühen Entwicklungsstadium besteht die Ventrikelwand aus einem einheitlichen Zellverband (pseudostratified epithelium

= mehrreihiges Epithel). Man unterscheidet drei Zonen: Ventrikulärzone, Intermediärzone, Marginalzone (Boulder Committee 1972). In der Intermediärzone findet während eines Zellzyklus die DNS-Reduplikation statt. Die Zellkerne wandern ventrikulwärts, um in die Mitose einzutreten. Nach erfolgter Teilung wandern die Tochterzellen dann piawwärts in die Intermediärzone, wo sie erneut in die S-Phase eintreten. Diese Bewegung wird als intermitotic (Sauer und Chittenden, 1959) bzw. interkinetic migration bezeichnet.

Bei der interkinetic migration handelt es sich nicht um eine Zellwanderung, sondern um eine Kernwanderung. Die Zellen sind durch zwei Fortsätze mit dem Ventrikellumen und der pialen Oberfläche verbunden. Im Bereich des Ventrikellumens haften die Zellen durch sog. terminalbars aneinander.

Durch eine aktive Kontraktion der Zelle - microtubuli - wird der Zellkern ventrikulwärts gezogen.

Während der Mitose verliert sich der periphere Fortsatz und die Zelle nimmt eine mehr runde Form an. Nach erfolgter Teilung bilden sich die Fortsätze erneut aus und verspannen die Tochterzellen über die gesamte Breite der Ventrikulwand (Sauer und Chittenden, 1959; Sidman et al., 1959; Fujita et al., 1962; Langman et al., 1966; Boulder Committee, 1972; Stensaas und Stensaas, 1968; Hinds und Ruffett, 1971; Duncan, 1957).

Die Tochterzellen wandern in die Intermediärzone und treten entweder die nächste S-Phase ein oder gehen in die Differenzierung über. Dabei soll die Stellung der Spindelachse eine entscheidende Rolle spielen. Liegt die Spindelachse parallel zur Ventrikulwand, entstehen zwei Neuroepithelzellen. Liegt die Spindelachse senkrecht zur Ventrikulwand, entsteht eine Neuroepithelzelle und ein Neuroblast (Langman et al., 1966). Die Neuroblasten haben die Fähigkeit verloren, die sog. terminalbars auszubilden. Über die Ursache dieses Verlustes ist nichts bekannt.

Die Tochterzellen, die in die Differenzierung eintreten, wandern, wie autoradiographische Befunde zeigen, von der ventrikelnahen Stelle der Mitose piawärts (Angevine und Sidman, 1961; Fujita et al., 1964; Berry und Ears, 1963; Shimada und Langman, 1970a). Diese Wanderung wird als cortical migration bezeichnet. Bei dieser Wanderung handelt es sich nicht nur um eine Kernwanderung wie bei der intermitotic migration, sondern um eine Zellwanderung. Dieser Prozeß läuft so ab, daß die zuletzt gebildeten Neuroblasten an die Oberfläche des Cortex zu liegen kommen, während die tieferen Schichten aus schon früher gebildeten Zellen bestehen.

Außer diesen, von vielen Autoren akzeptierten Vorstellungen, gibt es aber noch andere Deutungen der morphologisch faßbaren Phänomene:

Nach Berry und Rogers (1965) bleiben beide Cytoplasmafortsätze während der Mitose erhalten. Erst nach abgelaufener Zellkernteilung findet die Cytoplasmateilung statt.

Nach Hinds und Ruffett (1971) verliert die Zelle während der Mitose den peripheren Fortsatz. Sofort nach der Teilung wächst ein neuer peripherer Fortsatz aus. Ob aus der Tochterzelle eine Neuroepithelzelle oder ein Neuroblast wird, wird durch den peripheren Fortsatz und dessen Wachstumsrichtung bestimmt. Im Falle einer Differenzierung in Richtung eines Neuroblasten wandert die Zelle mit Hilfe des peripheren Fortsatzes zur Korticalplatte.

Die dritte Theorie geht auf Rakic (1972) zurück: Die Neuroblasten wandern entlang den von der Ventrikulärzone ausgehenden, radiär orientierten Gliafortsätzen.

Die Histogenese des Cerebellums geht aus vom Neuroepithel der Cerebralplatte, die sich aus dem Flügelplattenbereich zwischen der späteren Area statica und dem Tectum opticum (Jakob, 1928) bildet.

Das allgemeine Konzept der Histenogenese des Cortex wird von den meisten Autoren (Andreoli et al., 1972; Hanaway, 1967; Fujita et al., 1966) auch für die frühe Entwicklungsphase des Cerebellums als gültig beschrieben. Bei Rattenembryonen vollzieht sich diese Entwicklung bis zum Tag 15 (Adhami und Wagner, 1976). Sie wird als Proliferationsphase bezeichnet. Andreoli et al. (1972) konnte mit Hilfe von autoradiographischen Untersuchungen nachweisen, daß Purkinje-Zellen von Tag 11 bis 13 der Schwangerschaft bei der Maus gebildet werden. An den Tagen 11 und 12 werden die Purkinje-Zellen für alle Bereiche des Vermis gebildet, während am Tag 13 hauptsächlich Purkinje-Zellen des Lobus anterior des Vermis entstehen.

Die zweite Phase der pränatalen Entwicklung des Cerebellums wird kompliziert durch das Auftreten der embryonalen Körnerschicht (Jakob, 1928), die im folgenden kurz als EGL (external granular layer) bezeichnet wird. Über die Bedeutung dieser Schicht, nämlich die einer zweiten Keimschicht (Raaf und Kernahan, 1944) einer modifizierten ventrikulären Keimzone (Jakob, 1928), als "externally dislocated matrix cells" (Fujita et al., 1966), sind sich die meisten Autoren einig. Aus den Zellen der EGL sollen vor allem die Körnerzellen, Korbzellen und Sternzellen der Kleinhirnrinde entstehen (Miale und Sidman, 1961; Fujita et al., 1966; Fujita, 1967; Uzman, 1960a).

Über die Entstehung der EGL gibt es jedoch zwei Theorien: Die eine, vertreten durch Cajal (1890), Jakob (1928), Bonnevie und Brodal (1946), Miale und Sidman (1961), Shimada und Langman (1970b) geht davon aus, daß die Zellen der EGL von proliferierenden Zellen am Telaansatz des Plexus choroideus des 4. Ventrikels abstammen und von dort nach rostral die Kleinhirnoberfläche überwachsen. Nach einer zweiten Theorie, vertreten von Hanaway (1967) entsteht die EGL aus den Zellen der darunterliegenden ventrikulären Matrixzone, die durch die Intermediärzone zur Oberfläche wandern.

In der EGL läßt sich ab Tag 3 p.n. bei der Maus eine äußere Proliferationszone und eine innere Zone unterscheiden, in der keine DNS-Synthese mehr stattfindet (Shimada, 1966). Bei der späteren Wanderung der Zellen aus der EGL in die innere Körnerschicht (internal granular layer, EGL) benutzen die Neuroblasten die radiär gestellten Bergemann-Gliafasern als Leitschiene (Rakic, 1971), um durch die Molekularschicht zu gelangen.

Lichtmikroskopische Serienschnittuntersuchungen an Rattenembryonen zeigen, daß die EGL aus dem Proliferationszentrum am Telaansatz des Plexus choroideus des 4. Ventrikels hervorgeht (Adhami und Wagner, 1976).

Die Differenzierung und endgültige Formation der Kleinhirnrinde vollzieht sich vorwiegend peri- und postnatal. Sie ist zwischen Tag 20 praenatal und Tag 15 postnatal abgeschlossen. Aus diesem Grunde befassen sich die meisten Autoren (Uzman, 1960a; Angevine und Sidman, 1961; Addison, 1911; Fujita et al., 1966) mit der Entwicklung des Cerebellums in diesem Zeitraum. Über die pränatale Entwicklung stehen wenige Arbeiten zur Verfügung. Ziel dieser Arbeit ist, die pränatale Entwicklung des Cerebellums bei Rattenembryonen aufzuzeigen.

Solche Untersuchungen sind besonders als Grundlage für Deutungen teratologischer Experimente von großem Wert.

Eine Vielzahl solcher teratologischer Versuche sind unternommen worden, um Aufschluß über Mißbildungen im Bereich des ZNS zu erhalten. Dabei stellte sich heraus, daß für die Art der Schädigung in erster Linie der Zeitpunkt der Verabreichung des schädigenden Mittels von Bedeutung ist. Vor Schluß der Neuralrinne angewandt, erzeugen z.B. Röntgenstrahlen (Hicks, 1954), Folsäure-Defizit (Nelson et al., 1952), Trypanblau (Hamburgh, 1954) und Vit.A-Überdosierung (Landman und Welch, 1966) bei Ratten und Mäusen ein Exencephalus, bzw. Anencephalus.

Werden die gleichen Experimente jedoch kurz vor der Geburt durchgeführt, zeigen sich keine auffälligen Mißbildungen. Genauere lichtmikroskopische und elektronenmikroskopische Untersuchungen nach Anwendung von Röntgenstrahlen (Hicks und D'Amato, 1966), Vit.A-Überdosierung (Langman und Welch, 1967), Azacytidine (Landman und Shimada, 1971), Merkaptopurin (Adhami und Noack, 1975) zeigen jedoch, daß Schäden vorhanden sind, die histologisch noch erfaßbar sind: Verminderung der Zellzahl, das Auftreten von pathologischen Nervenzellformen und abnorme Wanderungsvorgänge. Im Zusammenhang mit dem Problem der abnormen Wanderungsvorgänge berichten Webster et al. (1973), daß Zellen, die in der S-Phase mit 5-Fluorodeoxyuridin, einem Stoff, der in die DNS-Synthese eingreift, geschädigt worden sind, eine Wanderung vollziehen, die der cortical migration gleicht, ohne vorher eine zweite Mitose durchlaufen zu haben.

Teratologische Experimente im Bereich des Cerebellums wurden vorwiegend in der postnatalen Entwicklungsphase durchgeführt.

Greift man in die frühe postnatale Entwicklung ein, z.B. durch Anwendung von Röntgenstrahlen (Altman et al., 1967); Cyclophosphamid (Nathanson et al., 1969); 5-Fluorodeoxyuridine (Shimada und Langman, 1970b); Methylazoxymethanol (Shimada und Langman, 1970a), so zeigen sich bei allen Substanzen Nekrosen in der EGL. Nach Abräumung dieser Nekrosen und nach Regenerationsvorgängen treten in der Molekularschicht ektopische Zellnester auf (Ebels, 1972), die aus Neuroblasten bestehen, welche ihre Wanderung nicht vollendet haben.

Als weiteres gemeinsames Merkmal wurde eine abnorme Lage und Orientierung der Purkinje-Zellen festgestellt. Die Purkinje-Zellen lagen z.T. in der Molekularschicht verstreut und ihr Cytoplasma-Konus zeigte in Richtung des Marklagers, und nicht wie normal in Richtung der Oberfläche des Cerebellums. Als Grund hierfür wird angegeben, daß die Zahl der Purkinje-

Zellen normal ist, der Raum, der ihnen zur Verfügung steht, jedoch erheblich gemindert ist, da die EGL, von der das Hauptwachstum des Cerebellums postnatal ausgeht, z.T. zerstört ist (Shimada und Langman, 1970b).

Eine andere Erklärungsmöglichkeit liegt darin, daß die Lage und Orientierung der Purkinje-Zellen von der Interaktion der Purkinje-Zellen mit den Zellen aus der EGL abhängt. Die abnorme Lokalisation der Purkinje-Zellen ist dann ein sekundärer Effekt aufgrund der primären Schädigung der Zellen der EGL, da die Interaktion durch die teratogen wirksamen Substanzen gestört worden ist.

Aus diesem kurzen Überblick erkennt man, daß die postnatale Cerebellumentwicklung und ihre Beeinflussung durch Umweltfaktoren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen war.

Anders verhält es sich mit der pränatalen Entwicklung und ihrer Schädigung durch Pharmaka.

Verwendet man am Tag 11 bis Tag 13 der Schwangerschaft bei Mäusen 5-Fluorodeoxyuridin, ein DNS-Synthesehemmer, so erhält man ein Defizit an Purkinje-Zellen in der postnatalen Periode, obwohl Reparationsvorgänge festgestellt werden (Webster et al., 1973). Diese Reparationsvorgänge zeigen sich in einer Verlängerung des Zeitraumes der Purkinje-Zellbildung um 24 Std. und in einem erhöhten Mitoseindex 48 Std. nach der Behandlung. Die Cytoarchitektur des Cerebellums von behandelten Tieren ist, trotz einer verringerten Größe des Gesamtcerebellums, normal.

Ähnliche Ergebnisse werden mit Methylazomethanol, einem DNS-Synthesehemmer (Shimada und Langman, 1970a), erzielt. Diese Substanz zerstört zwar, am Tag 13 bis 15 der Schwangerschaft bei Hamstern verabreicht, die EGL. Es kann jedoch am Tag 20 p.n. kein Unterschied in der Cytoarchitektur des Cerebellums von behandelten und unbehandelten Tieren festgestellt werden. Zu der gleichen Schlußfolgerung, nämlich,

daß eine pränatale EGL-Schädigung weitgehend ausgeglichen werden kann, kommt Altman et al., 1969 in einem Versuch mit Röntgenstrahlen von geringer Dosierung.

In der folgenden Arbeit wird die teratogenetische Beeinflussung der pränatalen Entwicklung des Cerebellums durch 6-Merkaptopurin untersucht. 6-MP, ein Purinantagonist, wurde von Elion G.B. 1952 synthetisiert. Seine antitumorösen Eigenschaften wurden an einem experimentellen Tumor-Sarkoma 180 - (Clarke et al., 1953) entdeckt. Ab 1954 wurde er in der Behandlung von akuter Leukämie bei Kindern und chronisch-myeloischer Leukämie bei Erwachsenen (Elion und Hitchings, 1965) eingesetzt. Seit der Einführung von Busulfan in der Behandlung der chronisch-myeloischen Leukämie wird es nur noch für die Induktion und Remission der akuten Leukämie in der Pädiatrie verwendet (Murphy, 1965; Levine et al., 1969). Seine vielfältigen teratogenen Eigenschaften sind bekannt (Kalter, 1968). Für den Bereich des ZNS wurden Hydrocephalus (Zunin und Borrone, 1955 ; Adhami und Noak, 1975) und Spina bifida mit Encephalocele (Tuchman-Duplessis und Mercier-Parot, 1966) beschrieben.

Durch biochemische Untersuchungen weiß man, daß 6-MP die DNS-Synthese hemmt (Malamud et al., 1972; Lea et al., 1970; Elion, 1967) und in die RNS-Synthese eingreift (Mewes et al., 1971; Neubert et al., 1970; Borchert, 1972). Der Protein-, Lipid- und Intermediärstoffwechsel wird von 6-MP ebenfalls beeinflusst (Elion und Hitchings, 1965).

Lichtmikroskopische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Rattenembryonen zeigen Nekrosen an der Extremitätenknospe von Rattenembryonen am Tag 12 der Schwangerschaft 5 Std. nach i.p. Gabe (Merker et al., 1975). 6-MP-bedingte Nekrosen treten vor allem im blastemalen Gewebe auf, wo sich Proliferations- und Differenzierungsvorgänge abspielen (Merker et al., 1975; Kury et al., 1968). Schon

ausdifferenziertes Gewebe, wie Epithel oder Endothel, zeigt keine Nekrosen, obwohl auch noch eine proliferative Aktivität in diesem Gewebe vorliegt (Merker et al., 1975).

Die gleichen Nekrosen treten im Bereich der Ventrikelwand und im Rückenmark erst 24 Std. nach Gabe von 6-Merkaptopurin auf und erreichen ihr größtes Ausmaß nach 48 Std. (Adhami und Noak, 1975; Adhami et al., 1975). Die Nekrosen sind am Tag 14, 48 Std. nach der Behandlung mit 6-MP am Tag 12, in der Intermediärzone lokalisiert, während die Ventrikulärzone und die Marginalzone keine Schädigung aufweisen.

In dieser Arbeit wird die Beeinflussbarkeit der Cerebellumentwicklung bei Ratten zwischen Tag 12 und Tag 20 durch 6-MP untersucht werden. Dabei soll auch versucht werden, Rückschlüsse auf die normale Entwicklung des Cerebellums zu ziehen.

MATERIAL UND METHODE

Wistar SW 69 Ratten, die sich in einem umgekehrten Schlaf-Wachrhythmus befanden, wurden zwischen 8 und 10 Uhr morgens gepaart. Der Tag der Paarung wurde als Schwangerschaftstag 0 bezeichnet.

Teil 1: Normale Cerebellumentwicklung

Am Morgen der Tage 12 bis 20 wurden die Embryonen durch sectio caesarea entnommen.

Teil 2: Teratogene Wirkung von 6-Merkaptopurin

Am Morgen der Tage 12 bis 18 erhielt je eine Gruppe von Muttertieren 25 mg 6-MP/kg/KG. Jede Gruppe bestand aus 15 Tieren. 24/48/72 Std. nach der Behandlung wurden die Embryonen durch sectio caesarea entfernt.

Die weitere histologische Bearbeitung war für beide Versuche gleich:

Die Embryonen wurden mit aer Lösung nach Bouin fixiert und über die Alkoholreihe in Paraffin eingebettet. Die 10 μ dicken Paraffinschnitte wurden mit einem Leitz-Mikrotom geschnitten und mit Haematoxylin-Eosin gefärbt.

Die Photographien erfolgten mit einem Zeiss-Photomikroskop.

ERGEBNISSE

Normale Cerebellumentwicklung

Tag 12

Die Cerebellumanlage stellt sich in der Medianebene (Abb.1a) als dreieckige Formation im dorsalen Übergangsbereich der Wand des 4. Ventrikels zur Wand des Mesencephalonbläschens dar. Sie ist nach kaudal gegenüber dem Dach des 4. Ventrikels der sog. Deckplatte nach His scharf abgegrenzt, während die rostrale Grenze gegen das Mesencephalon unscharf ist. Das Cerebellum nimmt nicht das ganze oben beschriebene Dreieck ein (Abb.1b). Die rostrale Grenze, die sich in einer leichten Einsenkung zeigt, liegt etwas unterhalb der Spitze auf dem rostralen Schenkel des Dreiecks. Man kann die Cerebellumanlage einteilen in die rostrale bzw. kaudale Zwischenzone und in eine Mittelzone. Beide Zwischenzonen zeigen annähernd gleiches Dickenwachstum. Eine Schichteneinteilung ist nicht zu erkennen (Abb.1c). Die Neuroepithellage ist gegenüber dem Mesenchym scharf abgegrenzt.

Etwas weiter lateral (Abb.1d) nimmt das Cerebellum nicht mehr den kaudalen Schenkel eines annähernd gleichseitigen Dreiecks ein, sondern dieser Schenkel hat sich vor allem in rostrokaudaler Richtung gestreckt, während der rostrale Schenkel, der im wesentlichen vom Mesencephalon gebildet wird, in der Größe gleich geblieben ist. Die Grenze zum Mesencephalon wird durch eine Einsenkung des Neuroepithels auf der Mesenchymseite gebildet. Die Massenzunahme der Mittelzone gegenüber den Zwischenzonen tritt deutlich hervor (Abb.1e). Die rostrale Zwischenzone zeigt ein geringeres Dickenwachstum wie die kaudale Zwischenzone. Zum Mesenchym hin zeigt die Cerebellumanlage, die keine Schichtung erkennen läßt, einen deutlichen Randschleier, der sich nach kaudal wie auch zum Mesencephalon hin verliert.

Im Lateralschnitt (Abb.2a) erkennt man 3 Rhombomere (Theiler, 1972) der Fossa Rhomboidea (Grundplatte). Gegenüber der Flügelplatte (Cerebellumanlage) ist die Grundplatte durch den deutlich hervortretenden sulcus limitans (Abb.2b) abgegrenzt. Das Cerebellum verjüngt sich in Richtung des sulcus limitans hin zunehmend. Es ist mit einem dünnen Randschleier versehen und läßt sich nicht in Schichten einteilen.

Tag 13

Die Cerebellumanlage unterscheidet sich nur in wenigen Punkten von der Anlage am Tag 12 (Abb.2c). Man erkennt die Grenze zum Mesencephalon, die durch die Incisura cerebello-mesencephali gebildet wird. Das histologische Bild der sich anschließenden rostralen Zwischenzone gleicht dem Aufbau der Ventrikelwand mit Ventrikulärzone, Intermediärzone und Marginalzone. Die kaudale Zwischenzone läßt dagegen eine genaue Gliederung nicht zu; sie zeigt eine etwas stärkere Proliferationstendenz als die rostrale Zwischenzone (Abb.2d).

Tag 14

Besonders im Mediansagittalschnitt (Abb.3a) läßt sich eine Umbildung der Deckplatte des 4. Ventrikels erkennen. Die Deckplatte, die an den zuvor untersuchten Tagen nur aus einer langausgezogenen dünnen Schicht bestand, erfährt eine starke Mesenchymzunahme und bildet sich zu einem Dreieck mit nach innen gekehrter Spitze um. Das Cerebellum zeigt eine deutliche Zellzahlzunahme, wobei die unterschiedliche Proliferationsaktivität von Mittelzone und kaudaler Zwischenzone einerseits und rostraler Zwischenzone andererseits deutlich hervortritt (Abb.3b). Die Cerebellumanlage weist keine Schichtung bei dieser Schnittführung auf.

Am Dach des 4. Ventrikels treten lateral (Abb.3c) Ansätze einer Plexus choroideusentwicklung auf. Das Neuroepithel ist vom umgebenden Mesenchym durch eine zellfreie Faserschicht abgegrenzt. Im Bereich des Cerebellums, das von der Ponsanlage durch den hier sehr seichten Sulcus limitans

abgegrenzt wird, ist eine deutliche Schichtung vorhanden (Abb.3d). Die zelldichte Ventrikulärzone wechselt in ihrer Dicke beträchtlich, wobei das Maximum im Bereich des Plexusansatzes liegt. Nach außen schließt sich eine etwas locker aufgebaute Schicht an (Intermediärzone).

Tag 15

Im Mediansagittalschnitt (Abb.4a) erkennt man den gut ausgebildeten Plexus choroideus im Bereich des 4. Ventrikels. Das Cerebellum, welches an den relativ breiten Aquaeductus Sylvii grenzt, zeigt eine deutliche Umwandlung in der Cytoarchitektur (Abb.4b). Die auftretende Schichtenbildung ist besonders am Telaansatz ausgeprägt. Am auffälligsten an dieser Schichtung ist eine dichte Zellformation an der kaudodorsalen Oberfläche des Cerebellums. Sie erinnert in ihrem Zellbild an die Ventrikulärzone, mit der sie am Telaansatz in Verbindung steht (Abb.4c). Es handelt sich bei dieser Schicht um ein frühes Stadium in der Ausbildung der embryonalen Körnerschicht (EGL). Nach innen schließt sich eine zellarme Lage an, welche ihrerseits an die aus einem lockeren Zellverband bestehende Intermediärzone angrenzt. Die Intermediärzone weist keine weitere Gliederung auf.

Die gleichen Verhältnisse liegen auch weiter lateral vor (Abb.4d).

Der Querschnitt (Abb.5a) zeigt das Cerebellum als Dach des 4. Ventrikels. Die aufgetretenen Schichten im Lateralschnitt gleichen denen im Medianschnitt (Abb.5b).

Tag 16

Deutlich (Abb.5c) ist das Ventrikelsystem des Rattenembryos zu erkennen. Das Cerebellum befindet sich rostral des deutlich hervortretenden Plexus choroideus des 4. Ventrikels. Die Grenze zum Mesencephalon wird durch die Incisura cerebellomesencephali gegeben (Abb.5d). Die Mittelzone des

Cerebellums besteht im wesentlichen aus einer uniformen, dicht gepackten Zellage. Nach außen schließt sich eine zellarme Zone an, die an die embryonale Körnerschicht (EGL) grenzt. Die EGL erstreckt sich nur im kaudodorsalen Bereich der Cerebellumoberfläche.

Die Grenze des Cerebellums zu den ventralen Abschnitten des Mesencephalon ist im Lateralschnitt (Abb.6a) nur unscharf zu erkennen. Man erkennt die gleiche Schichtenbildung wie am Tag 15 (Abb.6b). Lediglich direkt unter der an die EGL grenzenden Schicht zeigt sich eine Zellverdichtung, die man als innere granuläre Schicht (IGL) bezeichnen kann. Die EGL geht im Bereich des Telaansatzes in die Ventrikulärzone über (Abb.6c).

Tag 17

Schon in der Übersichtsvergrößerung eines Schnittes im Medianbereich (Abb.6d) bemerkt man, daß die EGL sich weiter nach rostral vorgeschoben hat. In der kaudalen Zwischenzone (Abb.7a) wird die sich nach innen anschließende Molekularschicht stark von Zellen durchsetzt. Die angrenzende Intermediärzone besteht aus einem lockeren Zellverband. Eine IGL ist nicht nachweisbar. Die Intermediärzone geht ohne scharfe Grenze in die Ventrikulärzone über. Die schon an früheren Tagen aufgezeigte Incisura cerebellomesencephali, die Grenze zwischen Cerebellum und Mesencephalon, tritt hier besonders hervor.

Im Mediolateralschnitt (Abb.7b) tritt zu den schon geschilderten Schichten die IGL hinzu.

Ganz lateral (Abb.7c) zeigt sich deutlich das Tentorium cerebelli. Das Cerebellum geht unscharf in die ventralen Abschnitte des Mesencephalon über. Auffallend ist hier eine stark ausgeprägte zellarme Zone. Die EGL geht in die Ventrikulärzone im Bereich des Telaansatzes des Plexus choroideus des 4. Ventrikels über. Unterhalb der Molekularschicht liegt die IGL (Abb.7d).

Tag 18

In Abb.8a erkennt man eine deutliche Einengung des Aqueductus Sylvii. Der Querschnitt des Cerebellums ist in diesem Stadium und bei dieser Schnittführung annähernd quadratisch. Es tritt zusätzlich zu den in der Medianebene des Tages 17 vorhandenen Schichten der IGL auf, die sich deutlich von der Intermediärzone abhebt (Abb.8b/8c). Die Molekularschicht ist an einzelnen Stellen stark von Zellen durchsetzt. Die sich anschließende EGL nimmt nun die gesamte dorsale Oberfläche des Cerebellums ein.

Am Telaansatz des Plexus choroideus des 4. Ventrikels ist (Abb.8c/8d) eine starke Zellproliferation zu erkennen, die sich in dorso-rostraler Richtung über die Cerebellumoberfläche ausbreitet. Die auf den Medianschnitten gezeigte Schichtung findet man bei dieser lateralen Schnittführung vor.

Tag 19

Im Mediansagittalschnitt tritt deutlich die Abgrenzung des Cerebellums zu den Nachbarabschnitten des ZNS hervor (Abb.9a). Ein Tentorium cerebelli ist ausgebildet. Schon bei dieser Vergrößerung zeigt sich die vom Telaansatz in dorso-rostraler Richtung entwickelte EGL. Man erkennt die schon unter Tag 18 erläuterte Schichtung. Von außen nach innen sind zu sehen: EGL - Molekularschicht - IGL. Darunter liegt ein aufgelockerter Zellverband, der bis auf eine dünne Ventrikulärzone keine Schichtung aufweist.

Weiter lateral zeigen sich die gleichen Verhältnisse, wie sie seit Tag 17 bekannt sind (Abb.9b).

Im Lateralschnitt (Abb.9c) bemerkt man ein ovales Organ als Zellverdichtung unter einer bindegewebig hellen Zone. Die EGL umgibt das gesamte Cerebellum. Sie geht in den Telaansatz des Plexus choroideus des 4. Ventrikels über (Abb.9d).

Tag 20

In der Medianebene (Abb.10a/10b) kann man eine deutliche Zunahme der Dicke von IGL und EGL feststellen. Bei näherem Hinsehen fällt, etwa in der Mitte der äußeren Oberfläche des Cerebellums, ein Bezirk auf, wo die EGL auffallend schmal ist. Die IGL fehlt in diesem Bereich (Abb.10c). Die Molekularschicht ist kaum von Zellen durchsetzt. Auf demselben Bild findet sich noch ein Abschnitt des Cerebellums mit der Schichtung, wie sie schon aus früheren Tagen bekannt ist. Auffallend ist, daß hier die Molekularschicht von Zellen durchsetzt ist, die in Reihen, senkrecht zur EGL, gelagert sind.

Lateral ist das Lumen des 4. Ventrikels annähernd herzförmig. Es wird fast vollständig vom Plexus choroideus ausgefüllt. Am Telaansatz ist eine massive Zellverdichtung zu erkennen, in die sowohl die EGL wie auch die Ventrikulärzone übergehen (Abb.10d).

Durch 6-Merkaptopurin gestörte Cerebellumentwicklung

Nekrosen, die durch 6-Merkaptopurin verursacht werden, zeigen ein relativ uniformes Aussehen. Nekrotische Zellen besitzen einen stark dunkel gefärbten Kern, z.T. tritt eine Karyorhexis, z.T. eine Karyopyknose auf. In einigen Fällen liegen die zerstörten Zellen in Haufen zusammengeballt (Abb.11a). Zahlreiche Kerntrümmer vervollständigen das Bild der 6-MP bedingten Nekrose. In wenigen Fällen treten ballonartig aufgetriebene Kerne mit unscharfer Begrenzung auf. Diese Zelldegeneration ist ebenfalls auf 6-MP zurückzuführen.

Stark unterschiedlich ist das Ausmaß und die Lokalisation der Nekrosen an den einzelnen Tagen. In der Regel treten die ersten Nekrosen im Gehirn nach 24 Std. auf. 48 Std. nach der Behandlung erreicht das Ausmaß der Nekrosen ein

Maximum, nach 72-96 Std. sind keine Nekrosen mehr nachweisbar (Adhami, 1975).

Es soll hier betont werden, daß uns selbstverständlich die Existenz von sog. physiologischen Zellnekrosen bekannt ist. Sie werden nicht berücksichtigt und unter dem normalen Bild summiert. Die Beschreibungen in dieser Arbeit beziehen sich auf die Nekrosen, die durch die 6-MP-Behandlung zusätzlich aufgetreten sind. Ihre Zahl ist aber so groß, daß sich eine quantitative Auswertung erübrigt.

Behandlung am Tag 12

24 Std. nach der Behandlung treten vermehrt Einzelzellnekrosen in Form von Pyknose mit stark dunkel gefärbtem, kondensiertem Kern in der Intermediärzone auf. Die Ventrikulärzone zeigt keine pathologischen Veränderungen. Dieses Bild verstärkt sich 48 Std. nach Behandlung. Zu den Kernpyknosen gesellen sich zahlreiche Kerntrümmer und ballonartig aufgetriebene, unscharf begrenzte Kerne in der Intermediärzone. Die Nekrosen sind vor allem in der rostralen Zwischenzone und in der Mittelzone lokalisiert, während die kaudale Zone mit dem Telaansatz des Plexus choroideus frei von Nekrosen bleibt. Im Mediansagittalschnitt sind nur Einzelzellnekrosen nachweisbar (Abb.11b/11c), während die Nekrosen weiter lateral (Abb.11d/12a) deutlich zu Tage treten. Die Cytoarchitektur macht einen stark aufgelockerten Eindruck.

Behandlung am Tag 13

Im Cerebellum treten 24 und 48 Std. nach Behandlung mit 6-MP insgesamt weniger Nekrosen auf, verglichen mit der am Tag 12 behandelten Gruppe. Die Cytoarchitektur scheint nur gering gestört zu sein. Einzelzellnekrosen lokalisieren sich vor allem in der Intermediärzone (Abb.12b). Auffallend ist die starke mitotische Aktivität im Bereich der

Ventrikulärzone, die sich im Auftreten von zahlreichen Mitosefiguren zeigt (Abb.12c). Eine EGL ist 48 Std. nach Behandlung (Tag 15) im Bereich der kaudalen Zwischenzone im Gegensatz zur normalen Entwicklung nicht nachzuweisen (Abb.12d). Das geschilderte Bild läßt sich in allen Schnittebenen verfolgen (Abb.13a).

Behandlung am Tag 14

24 Std. nach Behandlung (Tag 15) ist im Gegensatz zur Normalentwicklung keine EGL nachzuweisen (Abb.13b). Einzelzellnekrosen finden sich in der Intermediärzone. 48 Std. nach Behandlung (Tag 16) tritt die EGL im Bereich der kaudalen Zwischenzone in allen Schnittebenen auf (Abb.13c/d/14a). Zelltrümmer, die vor allem an der rostralen Grenze der EGL auftreten, weisen auf abgelaufene Nekrosen hin. Am Telaansatz findet sich in der EGL kein Hinweis für Nekrosen. Die Molekularschicht ist im Bereich des rostralen EGL-Endes (Abb.14b) von zahlreichen Zellnekrosen durchsetzt, die sich in Form von Karyopyknosen und Zelldetritus darstellen. In der angrenzenden Intermediärzone treten zahlreiche Nekrosen auf, die sich bis zur Ventrikulärzone verfolgen lassen (Abb.14c). Die Ventrikulärzone selbst zeigt keine Nekrosen. Ein IGL ist nur im lateralen Bereich des Cerebellums zu erkennen. Sie ist im Bereich der gestörten EGL bzw. Molekularschicht von zahlreichen Kernpyknosen durchsetzt (Abb.14d). Neben lichtmikroskopisch normal erscheinenden Zellen liegen zahlreiche Kerntrümmer.

Behandlung am Tag 15

24 Std. nach der Behandlung (Tag 16) finden sich im histologischen Bild kaum Unterschiede zur nicht behandelten Gruppe.

Nach 48 Std. erkennt man die weiter nach rostral vorgeschobene EGL, unter der sich in allen Schnittebenen eine

IGL befindet (Abb.15a). Auffallend ist das Nekrosemuster. In der EGL treten Einzelzellnekrosen auf. Zur Molekularschicht hin, die von zahlreichen dunkelgefärbten Kernen und Kerntrümmern durchsetzt ist, zeigt sich Zelldetritus. In der insgesamt aufgelockert wirkenden IGL lokalisieren sich neben intakten Zellen gehäuft Zellnekrosen. Über die Intermediärzone sind ebenfalls Nekrosen verteilt. Das beschriebene Nekrosemuster findet sich, wie auch am Vortag, vor allem im Bereich der Mittelzone. In der kaudalen Zwischenzone und hier besonders am Proliferationszentrum am Telaansatz des Plexus choroideus des 4. Ventrikels fehlen die erwähnten Veränderungen (Abb.15b/c).

In der Ventrikulärzone lassen sich Einzelzellnekrosen nachweisen.

Behandlung am Tag 16

48 Std. nach der Behandlung (Tag 18) läßt sich eine Verstärkung des Nekrosemusters aufzeigen, das nach Behandlung am Tag 15 bereits beschrieben wurde (s.o.) (Abb.15d). In der EGL finden sich, besonders zur Molekularschicht hin, Nekrosen. In der Molekularschicht sind vermehrt Kernpyknosen nachweisbar. Man erkennt in der IGL neben intakten Zellen auch große Mengen Zelldetritus (Abb.16a-c). Es sind jedoch auch einige Nekrosen im Bereich der kaudalen Zwischenzone lokalisiert (Abb.16d).

Behandlung am Tag 17

In der Ventrikulärschicht finden sich 48 Std. nach der Behandlung nur wenige Einzelzellnekrosen. Die Intermediärzone ist von zahlreichen Zellnekrosen durchsetzt, es sind jedoch auch lichtmikroskopisch intakte Zellen vorhanden (Abb.17a/b). Die aufgelockerte IGL weist Zelldetritus und Kernpyknosen auf. In vermehrtem Maße ist die Molekularschicht durch Nekrosen gekennzeichnet, die sich besonders

direkt unterhalb der EGL verdichten. Die EGL zeigt Einzelnekrosen (Abb.17c/d).

Behandlung am Tag 18

Die EGL hat sich am untersuchten Tag 20 über die gesamte dorsale Kleinhirnoberfläche geschoben. Sie weist in allen Bereichen die schon am Tag 17 und 48 Std. erwähnten Kennzeichen auf (Abb.18a-c).

Auch die übrigen Teile des Cerebellums bieten das gleiche Nekrosemuster wie an den Vortagen.

Übersicht über die normale Cerebellumentwicklung

Die Entwicklung des Cerebellums von Tag 12 bis Tag 20 läßt sich auf der Grundlage der hier kurz skizzierten Befunde und unter Berücksichtigung bereits vorliegender Ergebnisse in drei Phasen gliedern.

Die 1. Phase von Tag 12 bis Tag 14 ist die sog. Proliferationsphase.

Am Tag 12 besteht das Cerebellum aus einer Verdickung des Neuroepithels zwischen der Deckplatte (His) des 4. Ventrikels und dem Mesencephalon. Die kaudale Zwischenzone, die die gleiche Proliferationstendenz zeigt wie die Mittelzone, setzt sich scharf gegenüber der Deckplatte ab. Die rostrale Zwischenzone zeigt eine geringere proliferative Aktivität und geht unscharf in das Mesencephalon über. Diese Grenze wird ab Tag 13 durch die Incisura cerebellomesencephali angezeigt. Sie ist zunächst durch eine Einsenkung des Neuroepithels zur Mesenchymseite gekennzeichnet. Eine Einsenkung zur Ventrikellumenseite tritt erst an den folgenden Tagen auf. Die Neuroepithellage besteht aus einem einheitlichen Zellverband. Erst ab Tag 14 kann man, besonders deutlich im Lateralschnitt, eine Ventrikulärzone, eine Intermediärzone mit Randschleier erkennen.

Die 2. Phase von Tag 15 bis Tag 18 kann man als Schichtungsphase bezeichnen.

Das histologische Bild ändert sich am Tag 15 erheblich. Neben einer Zunahme der gesamten Kleinhirnanlage kann man eine Zelllage erkennen, die sich im Bereich der kaudalen Zwischenzone direkt unter der Pia mater zu lokalisieren beginnt. Diese Zelllage, die external granular layer (Fujita et al., 1966; Raff und Kernahan, 1944) bzw. embryonale Körnerschicht, läßt sich bis zum Telaansatz des Plexus choroideus des 4. Ventrikels verfolgen. Die EGL steht hier mit der Ventrikulärzone in Verbindung. Ihre Zellagen sind hier am dichtesten gepackt. Die EGL ist bei bestimmter Schnittführung im Medianschnitt kaum zu erkennen, während sie bei idealer mediolateraler und lateraler Schnittführung deutlich zu sehen ist. Ab Tag 16 nimmt die EGL zunehmend die äußere Oberfläche des Kleinhirns ein, um am Tag 18 die gesamte dorsale Kleinhirnoberfläche zu überziehen. Diese Entwicklung vollzieht sich in allen Teilen des Cerebellums gleichzeitig. Ab Tag 16 kann man, besonders auf dem Lateralschnitt, direkt unter der in die EGL grenzenden zellarmen Zonen eine Zellverdichtungszone erkennen. Diese Zone stellt die später innere Körnerschicht = internal granular layer dar. Am Tag 18 gliedert sich das Cerebellum in allen drei Schnittebenen in EGL - Molekularschicht - IGL - Intermediärzone - Ventrikulärzone.

Die Schichtungsphase ist, beurteilt nach dem morphologischen Bild der Ventrikulär- bzw. Intermediärzone, durch eine geringe Proliferationstendenz gegenüber einer stärkeren Differenzierungstendenz gekennzeichnet.

Die 3. Phase stellt eine erneute Proliferationsphase dar.

Die EGL macht ein erhebliches Dickenwachstum durch. Auch die Molekularschicht und die IGL nehmen an Breite zu. Neue Schichten bzw. ein verändertes Zellbild treten nicht auf.

Die Befunde vom Tag 20 zeigen, daß die IGL etwa in der Mitte der Kleinhirnoberfläche fehlt. Dies deckt sich mit Befunden von Jacob (1928), der darin die frühe Anlage des Lobus medius des Cerebellums als phylogenetisch jüngsten Teil sieht.

Übersicht über die durch 6-Merkaptopurin gestörte Cerebellumentwicklung

6-MP bedingte Nekrosen haben ein uniformes Aussehen. Karyopyknose, Karyorhexis, Zelldetritus und ballonartig aufgetriebene, unscharf begrenzte Zellen sind die Hauptmerkmale. Erste Nekrosen treten vereinzelt nach 20 Std. auf, nach 48 Std. ist das Vollbild erreicht.

Das Ausmaß und die Lage der Nekrosen ist an den untersuchten Tagen (Tag 12 - Tag 18) stark unterschiedlich. Nach Behandlung am Tag 12 finden sich Nekrosen nur in der Intermediärschicht im Bereich der rostralen Zwischenzone bzw. der Mittelzone. Bei Injektion am Tag 13 ist die Gesamtzahl der Nekrosen stark reduziert. Die EGL tritt im Gegensatz zur Normalentwicklung am Tag 15 (48 Std. post inj.) nicht auf. Die Behandlung am Tag 14 unterdrückt ebenfalls die Ausbildung der EGL. Erfolgt der Eingriff an den folgenden Tagen (Tag 15 - Tag 18), so treten die meisten Nekrosen 48 Std. nach Behandlung auf. Mit zunehmender Dauer der Schwangerschaft sind die Nekrosen bevorzugt an der Grenze der EGL zur Molekularschicht, in der Molekularschicht und in der IGL lokalisiert. In der EGL und in der Ventrikulärschicht sind in der Regel nur Einzelzellnekrosen nachweisbar. Zu keinem Zeitpunkt werden in den beschriebenen Schichten alle Zellen geschädigt, sondern man kann ein Nebeneinander von geschädigten und ungeschädigten Zellen feststellen. Die IGL ist stark aufgelockert.

Das Proliferationszentrum am Telaansatz des Plexus choroideus bleibt weitgehend von einer Schädigung frei. Erst mit

zunehmender Schwangerschaftsdauer wird das angrenzende Cerebellumgebiet in den geschädigten Bezirk einbezogen.

DISKUSSION

Die normale Entwicklung des Cerebellums bei Rattenembryonen vollzieht sich zwischen Tag 12 und Tag 20 in drei Phasen.

Die erste Phase, die sogenannte Proliferationsphase, reicht von Tag 12 bis Tag 14. Sie ist durch eine deutliche Massenzunahme des Cerebellums und durch die unterschiedliche Proliferationstendenz zwischen rostraler und kaudaler Zwischenzone gekennzeichnet. Die Beurteilung dieser Phase hängt von der Wahl der Schnittführung ab, wie die Gegenüberstellung von Median- und Mediolateralschnitten zeigt. In diesem Zeitraum liegen im Cerebellum ähnliche Verhältnisse wie in den anderen Abschnitten des ZNS vor. Es ist nur ein einziges Matrixsystem, die Ventrikulärzone vorhanden.

Die Beobachtung, daß sich die bis dahin einheitliche Neuroepithellage am Tag 14 in eine Ventrikulärzone, Intermediärzone und Marginalzone unterteilt, deckt sich mit autoradiographischen Befunden von Uzman (1960a/b) bei der Maus. Am Tag 11 unterscheidet Uzman eine subependymale Zone und eine Mantelzone. Der Gebrauch der Begriffe "subependymale Zone" und "Ventrikulärzone" beruht nicht auf einem unterschiedlichen morphologischen Bild, sondern auf der Verwendung unterschiedlicher Nomenklatur. Ich beziehe mich in dieser Arbeit auf die allgemeingültige Nomenklatur des Boulder Committee's 1972.

Am Tag 15 der Schwangerschaft tritt in allen drei Schnittebenen zuerst in der kaudalen Zwischenzone die embryonale Körnerschicht (Jacob, 1928), bzw. die external granular layer (EGL) auf. Damit besitzt das Cerebellum ein duales Matrixzellsystem (Lahousse, 1888), welches aus Ventrikulärzone und EGL besteht. Am Tag 16 beginnt sich zuerst im lateralen Cerebellumbereich unterhalb der EGL und der Molekularschicht eine innere Körnerschicht (IGL) zu lokalisieren. Am Tag 18 überzieht die EGL die gesamte dorsale Oberfläche des Cerebellums.

Diese zweite Phase von Tag 15 bis Tag 18 wird als Schichtungsphase bezeichnet (Adhami und Wagner, 1976). Die dritte Phase von Tag 19 bis Tag 20 stellt eine erneute Proliferationsphase dar. Sie läßt eine deutliche Dickenzunahme der einzelnen Schichten erkennen.

Nach Fujita (1965) durchlaufen Neuroepithelzellen drei hintereinandergeschaltete Entwicklungsphasen: 1. reine Matrixzellproliferation, 2. Neuroblastendifferenzierung, 3. Glioblastendifferenzierung. Im Kleinhirn, welches über ein duales Matrixzellsystem verfügt, überlappen sich die einzelnen Phasen der Ventrikulärzone und der EGL. Auf das Kleinhirn der Ratte angewandt, die in ihrer Entwicklung gegenüber der Maus einen Rückstand von zwei Tagen aufweist, bedeutet dies (Fujita et al., 1966):

Tag 13 - Tag 15	Phase 2	Neuroblastendifferenzierung der Ventrikulärzone
Tag 15 - Tag 17	Phase 2	Neuroblastendifferenzierung der Ventrikulärzone
	Phase 1	Matrixzellproliferation der EGL
Tag 17 - Tag 3 p.n.	Phase 3	Glioblastendifferenzierung der Ventrikulärzone
	Phase 1	Matrixzellproliferation der EGL

Die hier benutzte Stadieneinteilung:

Proliferationsphase Tag 12 - Tag 14

Schichtungsphase Tag 15 - Tag 18

Proliferationsphase Tag 19 - Tag 20

ist aufgrund des unterschiedlichen Ansatzes nicht identisch mit der von Fujita aufgezeigten Phaseneinteilung.

Ein mehr grundsätzlicher Einwand erhebt sich gegen die Vorstellung vom schematischen Proliferations- und Differenzierungsverhalten der Neuroepithelzellen. Es ist bekannt, daß in der Neuralröhre die Neuroepithelzellen vom Lumen bis zur

Membrana limitans externa ausgedehnt sind (Sauer, 1935a,b; Langman und Welch, 1966). Die Membrana limitans externa soll nach einer älteren Ansicht aus Gliafortsätzen der Gliazellen bestehen. Dies wäre aber nicht möglich, wenn Gliazellen erst als letztes der Differenzierungsprodukte der Neuroepithelzellen gebildet werden würden. Dieser Einwand ist jedoch überholt, wenn man von der Vorstellung ausgeht, daß die Neuroepithelzellen selbst an der Bildung der Membrana limitans beteiligt sind (Langman et al., 1966). Auch die von Rakic 1972 beschriebene Wanderung der Neuroblasten entlang der Gliafasern im Sinne einer cortical migration ist undenkbar, wenn man an der schematischen Reihenfolge der Differenzierung der Neuroepithelzellen festhalten möchte.

Ein anderes Problem erhebt sich in der Frage nach dem Ursprung der embryonalen Körnerschicht (EGL). Man kennt zwei Theorien. Nach Schaper (1894), dessen Theorie von vielen neueren Autoren anerkannt worden ist (Fujita et al., 1966; Uzman, 1960a,b; Miale und Sidman, 1961), bildet sich die EGL aus Zellanhäufungen im Bereich des ventro-lateralen Plexusansatzes, um von dort die gesamte Kleinhirnoberfläche zu überwandern. Nach einem Stadium der Proliferation der EGL, die eine ausgewanderte Keimschicht darstellt, sollen sich diese Zellen in Neuroblasten differenzieren und zur IGL wandern (Uzman, 1960a,b). Die EGL ist zur Bildung von Korb-, Stern- und Körnerzellen befähigt (Miale und Sidman, 1961; Fujita et al., 1966; Fujita, 1967; Uzman, 1960a,b). Die zweite Auffassung geht auf Hanaway (1967) zurück. Er nimmt an, daß die EGL aus der darunterliegenden Keimschicht entsteht und in einer Art cortical migration zur äußeren Oberfläche des Cerebellum wandert. Nach lichtmikroskopischen Serienschchnittuntersuchungen scheint die unterschiedliche Beurteilung des EGL-Ursprungs in der Wahl der Schnittführung zu liegen (Adhami und Wagner, 1976). Die Beurteilung der Befunde am Tag 15 zeigt eine deutliche Verbindung der EGL mit dem Proliferationszentrum am Telaansatz des Plexus choroideus sowohl

im Mediolateralschnitt wie im Lateralschnitt. Im Median-schnitt ist die EGL nur spärlich ausgebildet und die Verbindung zum Telaansatz unscharf. In dieses Proliferationszentrum am Telaansatz strahlt sowohl die EGL wie auch die Ventrikulärzone ein. Das gleichzeitige Auftreten der EGL in allen drei Schnittebenen wurde schon von Schaper (1884) beschrieben, der von "Ependymkeilen" der medianen Deckplatte sprach. Diese medianen "Ependymkeile" sind schwächer ausgebildet als die lateralen bzw. mediolateralen Ependymkeile.

Dieser Befund steht im Widerspruch zu den Befunden von Miale und Sidman 1961, die die EGL zuerst in den ventrolateralen Arcalen des Cerebellums sahen. Nach meiner Auffassung ist dieser Widerspruch auf die gewählte Schnittführung zurückzuführen. Bei keiner der Untersuchungen lag eine Serienschnittuntersuchung vor.

Im Zusammenhang mit der Entstehung der EGL und ihrem Auswandern aus dem Proliferationszentrum am Telaansatz des Plexus choroideus des 4. Ventrikels muß die Frage der Terminalbars geklärt werden. Im allgemeinen Konzept der Histogenese des ZNS bedeutet der Verlust der Terminalbars auch gleichzeitig den Verlust der Teilungsfähigkeit und einen Schritt in der Differenzierung. Aufgrund der Lokalisation der Zellen der EGL und ihrer Entstehung ist es wenig wahrscheinlich, daß die Zellen der EGL Terminalbars besitzen. Sie verfügen jedoch nach der Ausbreitung über die Kleinhirnoberfläche über die Teilungsfähigkeit (Uzman, 1960; Miale/Sidman, 1961; Fujita et al., 1966; Shimada, 1966). Damit steht fest, daß die Theorie der Terminalbars für diesen Bereich des ZNS keine Gültigkeit besitzen.

Die Entwicklung der IGL wird von Tag 16 der Schwangerschaft an beobachtet, d.h. also zeitlich der EGL-Entstehung nachgeordnet. Ob die Zellen der IGL aus der EGL entstehen (Fujita et al., 1966) oder aus den ausgewanderten Zellen der Ventrikulärzone (Uzman, 1960a), kann mit Hilfe der

lichtmikroskopischen Befunde der normalen Cerebellumentwicklung nicht mit Sicherheit beantwortet werden. Aufgrund des zeitlichen Ablaufes (EGL-Entstehung am Tag 15, danach Entstehung der IGL am Tag 16) läßt sich eine Beteiligung der EGL an der IGL-Entstehung vermuten. Diese Vermutung wird durch die Befunde der durch 6-Merkaptopurin gestörten Cerebellumentwicklung verstärkt.

Über die Purkinje-Zellen lassen sich bei der gewählten Untersuchungsmethode keine Aussagen machen. Die Purkinje-Zellen werden am Tag 11 bis 13 (Uzman, 1960; Andreoli et al., 1972) durch die Ventrikulärzone gebildet. Sie durchlaufen eine lange Reifungsphase und werden lichtmikroskopisch erst postnatal unterscheidbar (Uzman, 1960; Jakob, 1928; Addison, 1911). Aufgrund der aufgezeigten chronologischen Entwicklung des Cerebellums zeigt sich, daß die Kleinhirnentstehung eine Sonderstellung im Rahmen der Histogenese des ZNS einnimmt. Die unterschiedliche Beurteilung der aufgeworfenen Fragen ist nicht nur auf eine unterschiedliche Methodik, sondern auch auf eine unterschiedliche Auswahl der Schnittführung zurückzuführen, was durch die Serienschnittuntersuchung aufgezeigt werden konnte.

Das Nervensystem stellt, vor allem in der frühen Entwicklungsphase, ein geeignetes Modell dar zum Studium des Wirkungsmechanismus eines Pharmakons und zur Beurteilung seiner teratogenen Eigenschaften. In diesem System vollziehen sich Proliferations-, Teilungs- und Differenzierungsvorgänge an verschiedenen Stellen in der Wand der Neuralröhre. Durch diese morphologische Gegebenheit kann man nach Anwendung einer Substanz aufgrund des zeitlichen Auftretens und der Lokalisation von Nekrosen Rückschlüsse auf die Wirkungsweise eines Pharmakons ziehen. Es müßte aber ebenso möglich sein, bei bekanntem Wirkungsmechanismus Aufschlüsse über die normale Entwicklung zu erhalten.

Nach einmaliger Gabe von 6-Merkaptopurin, einem Pharmakon mit Angriffspunkt an der Nucleinsäure-Synthese (Malamud

et al., 1972; Lea et al., 1970; Mewes et al., 1971; Neubert et al., 1970) können im Cerebellum von Rattenembryonen unterschiedliche Nekrosebilder zwischen Tag 12 und Tag 20 beobachtet werden.

Die Nekrosen sind bei Gabe am Tag 12 in der Intermediärschicht der rostralen Zwischenzone und der Mittelzone des Cerebellums lokalisiert. Erfolgt die Applikation am Tag 13, ist die Gesamtzahl der Nekrosen reduziert. Injektion am Tag 13 oder Tag 14 unterdrückt die Bildung der EGL. Mit zunehmender Dauer der Schwangerschaft treten die Nekrosen an der Grenze der EGL zur Molekularschicht, in der Molekularschicht und in der IGL deutlich hervor. Die EGL bzw. die Ventrikulärzone zeigen nur Einzelzellnekrosen.

Unabhängig vom Entwicklungsstadium und der Ausdehnung der Nekrosen, treten die ersten Schäden 20 bis 24 Std. nach Gabe von 6-MP auf und erreichen ihr höchstes Ausmaß nach 48 Std.

Die Lokalisation der Nekrosen nach Gabe von 6-MP am Tag 14 weist gewisse Parallelen zu der Lokalisation von 6-MP bedingten Nekrosen in der Wand des Telencephalonbläschens unter identischen Versuchsbedingungen auf (Adhami und Noak, 1975). Die nekrotischen Zellen liegen vorwiegend in der Intermediärschicht und es lassen sich keine morphologischen Veränderungen in der Ventrikulär- und Marginalzone erkennen. Aufgrund der Lokalisation in der Intermediärzone kann es sich bei den zugrunde gegangenen Zellen entweder um Neuroepithelzellen handeln, die sich in der S-Phase des Zellzyklus befanden, oder aber es handelt sich um Zellen, die nach der M-Phase in die Differenzierung eingetreten sind.

6-MP greift, wie biochemische Untersuchungen zeigen, direkt in den Purinstoffwechsel und indirekt in den Pyrimidinstoffwechsel (Mewes et al., 1971; Borchert, 1972) ein. Durch den Einbau in die DNS an Stelle des Purinkörpers hemmt es die DNS-Synthese (Elion 1967; Malamud et al., 1972). Gleich-

zeitig beeinflußt 6-MP den RNS-Stoffwechsel, wobei die m-RNS im Vordergrund steht (Mewes et al., 1971; Neubert et al., 1970).

Würde 6-MP massiv in die S-Phase eingreifen, so sollten die ersten morphologischen Zeichen einer Nekrose viel früher auftreten (Krowke, Merker, in Vorbereitung).

Solche Befunde werden nach Gabe von 5-Fluorodeoxyuridine, einer Substanz, die die DNS-Synthese blockiert und damit massiv in die S-Phase eingreift (Taylor et al., 1962; Webster et al., 1973), festgestellt.

Obwohl keine quantitative Untersuchung über die Mitoserate nach Gabe von 6-MP vorgenommen wurde, kann man aufgrund der vorliegenden Beobachtungen annehmen, daß keine wesentliche Veränderung der Mitose, bzw. M-Phase, stattfindet. Insbesondere treten im Cerebellum keine abnormen Mitosefiguren auf. Dieser Befund deckt sich mit Ergebnissen von Untersuchungen mit 6-MP an der Telencephalonwand (Adhami und Noak, 1975). Damit ergibt sich für den Wirkungsmechanismus von 6-Merkaptopurin folgende Erklärungsmöglichkeit:

6-Merkaptopurin wird in die DNS einer Neuroepithelzelle in der S-Phase eingebaut. Diese Zelle durchläuft die G_1 bzw. M-Phase. Die Tochterzellen treten über die G_2 -Phase erneut in die S-Phase ein. Erst hier können die DNS-Abschnitte mit eingebautem 6-MP nicht mehr repliziert werden und erst jetzt werden erste morphologische Veränderungen sichtbar. Dies würde die lange Latenzzeit zwischen Anwendung von 6-MP und Auftreten der ersten Nekrosen nach 24 Std. erklären, da die Generationszeit in diesem Entwicklungsstadium etwa 12 bis 14 Std. beträgt (Waechter und Jaensch, 1972). Diese Annahme deckt sich mit Befunden von Bromodeoxyuridin. Diese Substanz wird als Bromouracil an Stelle von Thymidin in die DNS eingebaut. Bromouracil verbindet sich jedoch mit Guanin und nicht wie Thymidin mit Adenin. Der gesamte genetische Code wird dadurch entstellt und die Bildung

von spezifischen, für die Differenzierung notwendigen Proteine verhindert. Die ersten Zeichen einer Zellschädigung treten nach 16 - 20 Std. auf. 24 Std. nach Behandlung mit BudR sind die nekrotischen Zellen in der Intermediärzone lokalisiert (Webster et al., 1973).

Die Lokalisation der Nekrosen in der Intermediärzone der Ventrikelwand (Adhami und Noak, 1975) und der Kleinhirnanlage gibt in diesem frühen Entwicklungsstadium keine Antwort auf die Frage, ob es sich bei den geschädigten Zellen um Neuroepithelzellen oder um die beginnende Differenzierung von Neuroblasten handelt.

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Ventrikelwand zwischen Tag 12 und Tag 17 nach einmaliger Gabe von 6-MP zeigt, daß mit zunehmender Entwicklungsstufe des Cortex die Nekrosen quantitativ abnehmen und nicht nur in der DNS-Syntheszone der entsprechenden Reifungsphase lokalisiert sind. Sie finden sich zwischen morphologisch intakten Zellen sowohl in der Subventrikular-Intermediärzone wie auch in der Corticalplatte (Adhami, 1976). Im Bereich des Cerebellums zeigt sich, daß während der Schichtungsphase und der sich anschließenden Proliferationsphase (Tag 15 - Tag 20) die Nekrosen, die durch 6-MP verursacht werden, über den verschiedenen Schichten mit Ausnahme der Ventrikulärzone und der EGL, verteilt sind. In der IGL findet sich ein Nebeneinander von intakten Zellen und Nekrosen. Die Zahl der Nekrosen nimmt jedoch mit zunehmender Schwangerschaftsdauer zu.

Da weder eine Schädigung von proliferierenden Neuroepithelzellen, noch eine Schädigung von ausgereiften Neuroblasten gefunden werden kann, ist der Schluß erlaubt, daß 6-MP Zellen während der Differenzierung schädigt.

Damit ist auch die Zunahme der Nekrosen im Laufe der Cerebellumentwicklung im Gegensatz zum Cortex erklärbar, da

sich im Cerebellum das Hauptwachstum, und damit die Differenzierungsvorgänge vorwiegend peri- und postnatal abspielen.

Interessant erscheint die Frage nach der cortical migration nach Gabe einer solchen Substanz. Für die intermitotic und die cortical migration im Cortex und im Cerebellum gibt es verschiedene Theorien:

Nach Berry und Roger (1965) besitzen Neuroepithelzellen einen inneren, zum Ventrikellumen reichenden, und einen äußeren, zur Piaoberfläche reichenden Cytoplasmafortsatz. Beide Fortsätze sollen während der Mitose erhalten bleiben. Das Cytoplasma teilt sich erst, nachdem zwei neue Tochterkerne entstanden sind. Elektronenmikroskopische Untersuchungen haben jedoch ergeben, daß sich die Cytoplasmamembran einer sich teilenden Zelle um die ganze Zirkumference der Zelle verfolgen läßt, ohne daß Cytoplasmafortsätze nachweisbar waren (Stensaas und Stensaas, 1968).

Nach Hinds und Ruffett (1971) verliert die Zelle während der Mitose den äußeren, peripheren Fortsatz. Sofort nach der Mitose wächst ein neuer äußerer Fortsatz aus. Ob aus der Tochterzelle eine Neuroepithelzelle oder ein Neuroblast wird, wird durch den äußeren Fortsatz und dessen Wachstumsrichtung bestimmt.

Die dritte Theorie geht auf Rakic (1972) zurück: Neuroblasten wandern entlang den von der Ventrikulärzone ausgehenden radiär orientierten Gliafortsätzen zur Corticalplatte. Für die Wanderung der Zellen aus der EGL in die IGL konnte Rakic (1971) das Entlanggleiten an den sog. Bergmann-Fasern aufzeigen.

Es erscheint unwahrscheinlich, daß geschädigte Zellen in der Lage sind, einen äußeren Fortsatz zu bilden (Webster et al., 1973). Aus diesem Grunde kommt meines Erachtens die Theorie von Rakic (1972) für die cortical migration in Frage. Wie eine degenerierende Zelle entlang einer

Gliafaser wandern kann, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden. Es ist möglich, daß die Zellschädigung zu gering ist, um diesen Prozeß zu verhindern, oder die degenerierenden Zellen werden von nachfolgenden intakten Zellen nach oben geschoben. Nach Rakic ist die Zahl der Gliafasern zu gering, als daß entlang einer Gliafaser nur eine Neuroblastenzelle wandern könnte, und es ist denkbar, daß sich auf diese Weise die Nekrosen über die Cortexwand verteilen.

Die Tatsache, daß 6-MP sich differenzierende Neuroepithelzellen schädigt, läßt auch einige Rückschlüsse auf die normale Entwicklung des Cerebellums zu:

Die EGL soll nach Fujita et al. (1966) erst ab dem 3. Tag postnatal Neuroblasten produzieren. Sie unterteilt sich zu diesem Zeitpunkt in eine äußere DNS-synthetisierende Zone und in eine innere Differenzierungszone. Von dieser Zone wandern die Neuroblasten durch die Molekularschicht zur IGL. Mit 6-MP können jedoch schon in der praenatalen Periode Nekrosen erzeugt werden, die sich an der Grenze der EGL zur Molekularschicht lokalisieren. Die EGL stellt sich zu diesem Zeitpunkt als lichtmikroskopisch einheitlicher Zellverband dar. Mit zunehmender Schwangerschaftsdauer treten die Nekrosen deutlicher hervor. Dies ist ein Hinweis, daß die EGL schon praenatal sich differenzierende Zellen bildet, ohne in zwei Zonen eingeteilt zu sein. Ein weiterer Hinweis dafür ist der Befund, daß sich in der Molekularschicht während der normalen praenatalen Entwicklung Zellen befinden, die in Reihen quer zur EGL gelagert sind. Nach Rakic (1971) vollzieht sich die Wanderung der von der EGL gebildeten Neuroblasten entlang den radiär gestellten Bergemann-Gliafasern. Mehrere Neuroblasten benutzen die gleiche Gliafaser als Leitschiene durch die Molekularschicht. Diese Neuroblasten können durch 6-MP zerstört werden, wie das Auftreten von pyknotischen Zellen und Zelldetritus in der Molekularschicht zeigt.

6-Merkaptopurin verursacht während der praenatalen Entwicklung morphologische Schädigungen im Bereich des ZNS. Das Ausmaß der Nekrosen ist von der Dauer der Spanne zwischen Anwendung und Untersuchung, und vom jeweiligen Entwicklungsstadium des Organes abhängig. Inwieweit sich nach dieser Schädigung Regenerationsvorgänge abspielen und welche funktionellen Störungen im Bereich des Cerebellums auftreten, ist nicht bekannt. Hier stellt sich die Aufgabe weiterer morphologischer Untersuchungen in der postnatalen Periode.

ZUSAMMENFASSUNG

An Hand einer lichtmikroskopischen Serienschnittuntersuchung wird die praenatale Entwicklung des Cerebellums bei Rattenembryonen von Tag 12 bis Tag 20 untersucht.

Man kann 3 Phasen unterscheiden: Proliferationsphase Tag 12 - Tag 14, Schichtungsphase Tag 15 - Tag 18, Proliferationsphase Tag 19 - Tag 20. In der Schichtungsphase entsteht eine zweite Matrixzellschicht, die sog. EGL (external granular layer), aus einem Proliferationszentrum am Telaansatz des Plexus choroideus des 4. Ventrikels. Die EGL schiebt sich in dorso-rostraler Richtung vor und überzieht am Tag 18 die gesamte Kleinhirnoberfläche. Dieser Vorgang vollzieht sich in allen Bereichen des Cerebellums gleichzeitig.

Die sog. IGL (internal granular layer) tritt zum ersten Mal am Tag 16 in Erscheinung. Sie ist am Tag 18 in allen Teilen der Kleinhirnrinde vertreten. Auf Grund des zeitlichen Ablaufes - EGL-Entstehung am Tag 15, IGL-Auftreten am Tag 16 - und des histologischen Bildes läßt sich eine Beteiligung der EGL an der Entstehung der IGL schon in der praenatalen Phase vermuten.

Experimentelle Untersuchungen mit Zytostatica zeigen, daß sich die praenatale Entwicklung des Kleinhirns beeinflussen läßt. Das Zytostaticum 6-Merkaptopurin greift als Purinantagonist in die Nucleinsäuresynthese ein. An Hand dieser Untersuchung wird aufgezeigt, daß zwischen den 6-Merkaptopurin bedingten Schäden im Cerebellum und den schon früher untersuchten, durch die gleiche Substanz verursachten Veränderungen in der Wand des Telencephalonbläschens Parallelen bestehen.

Aus dem zeitlichen Auftreten der Nekrosen und ihrer Lokalisation wird der Schluß gezogen, daß 6-Merkaptopurin Zellen schädigt, die sich in der Differenzierungsphase be-

finden. Undifferenzierte, pluripotente Zellen (Neuroepithelzellen) werden ebenso wenig geschädigt wie ausdifferenzierte Neuroblasten.

Mit Hilfe der gewonnenen Erkenntnisse wird versucht, Rückschlüsse auf die normale Entwicklung des Cerebellums zu ziehen.

- ALTMAN, J. 1972 Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. I. The external germinal layer and the transitional molekular layer. J. comp. Neur. 145, pp 353-398
- ANDREOLI, J., 1972 The influence of a prenatal trauma
RODIER, P., on formation of Purkinje cells.
LANGMAN, J. Am. J. Anat. 137, pp 87-102
- ANGEVINE, J.D., 1961 Autoradiographic study of cell-
SIDMAN, R.L. migration during histogenesis of cerebral cortex in the mouse. Nature 192, pp 766-768
- ATLAS, M., 1965 The cellgenerationcycle of the
BOND, V.P. 11 day mouse embryo. J. cell. biol. 26, pp 19-24
- BERRY, M., 1963 Histogenesis of the cerebral cortex.
EAYRS, J.T. Nature 197, pp 884-885
- BERRY, M., 1965 The migration of neuroblasts in the
ROGERS, A.W. developing cerebral cortex. J. Anat. 99, pp 691-709
- BONNEVIE, K., 1946 Hereditary hydrocephalus in the
BRODAL, A. house-mouse. IV. The development of the cerebellar anomalies during foetal life with notes on the normal development of the house-mouse. Skr. Norske Vid. Akad. Oslo I. Math. Nat. Kl. 4, pp 1-60
- BORCHERT, G. 1972 Eine Analyse der DNA-Synthese im embryonalen Säugetiergewebe unter dem Einfluß einiger embryotoxischer Pharmaka. Inaugural-Diss. FUB

- BOULDER COMMITTEE 1970 Embryonic vertebrate CNS: revised terminology.
Anat. Rec. 166, pp 257-262
- CAJAL, S.R. 1890 Sur les fibres nerveuses de la couche granuleuse de cervelet et sur l'evolution des elements cerebelleux.
Int. Monatsschrift für Anat. u. Physiol. Bd.7, pp 447-468
- CLARKE, D.A., 1953 Effect of 6-MP and analogs on
PHILIPS, F.S., experimental tumors.
STERNBERG, S.S., Ann. N.Y. Acad. Scient. 60,
STOCK, C.L. pp 235-243
- DUNCAN, D. 1957 Electron microscopic study of the
embryonic neuraltube and notachord.
Tex. Rep. Biol. med. 15, pp 367-377
- EBELS, J. 1972 Studies on ectopic granule cells
in the cerebellar cortex with a
hypothesis as to their aetiology
and pathogenesis.
Acta neuropath. 21, pp 117-127
- ELION, G.B., 1952 Studies on condensed Pyrimidine
BURGHI, E., system IX. The synthesis of some
HITCHINGS, G.H. 6-substituted purines.
J. Am. Chem. Soc. 74, p 411 ff.
- ELION, G.B., 1965 Metabolic basis for the actions of
HITCHINGS, G.H. analogs of purine and pyrimidines.
Adv. chemotherap. 2, pp 91-177
- ELION, G.B. 1967 Biochemistry and pharmacology of
purine analogues.
Fed. Proc. 26

- FUJITA, S. 1962 Kinetics of cellular proliferation.
Exp. cell Res. 28, pp 52-60
- FUJITA, S., 1964 H₃-thymidine autoradiographic stu-
HORN, M., dies on cytotoxic responses to
TANIMURA, T., x-ray irradiation and to Thio-TEPA
NISHIMURA, H. in the neural tube of mouse embryos.
Anat. Rec. 149, pp 37-48
- FUJITA, S. 1965 The matrix cells and histogenesis of
the central nervous system.
Laval medical 36, pp 125-130
- FUJITA, S., 1966 H₃-thymidine autoradiographic studies
SHIMADA, M., of the cell proliferation and dif-
NAKAMURA, T. ferentiation in the external and in-
ternal granular layer of the mouse
cerebellum.
J. comp. Neur. 128, pp 191-208
- FUJITA, S. 1967 Quantitative analysis of cell proli-
feration and differentiation in the
cortex of the postnatal mouse cere-
bellum.
J. cell Biol. 32, pp 277-287
- HAMBURGH, M. 1954 The embryology of trypan blue induced
abnormalities in mice.
Anat. Rec. 119, pp 409-422
- HANAWAY, J. 1967 Formation and differentiation of the
external granular layer of the chick
cerebellum.
J. comp. Neur. 131, pp 1 ff.
- HARDESTY, J. 1904 On the development and nature of the
neuroglia.
Am. J. Anat. 3, pp 229-268

- HERRIK, Cl. 1891 Architectonic of the Cerebellum.
J. comp. Neur. 1, pp 5-14
- HICKS, S.P. 1954 Mechanisme of radiation anencephaly,
anophthalmia and pituitary anomalies
repair in mammalian embryos.
Arch. Path. 57, pp 363-378
- HICKS, S.P., 1966 Effects of ionizing radiations on
D'AMATO, C.J. mammalian development.
Advances in Teratology 1, pp 195-250
- HINDS, J.W., 1971 Cell Proliferation in the neuraltube:
RUFFETT, T.C. An electron-microscopic and Golgi
analysis in the mouse cerebral
vesicle.
Z. Zellforschung 115, pp 226-264
- HIS, W. 1889 Die Neuroblasten und deren Entstehung
im embryonalen Mark.
Arch. Anat. Entwickl.gesch., Bd. 2,
pp 249-300
- JAKOB, A. 1928 Das Kleinhirn - Handbuch der mikros.
Anat. des Menschen, Bd. IV, Nerven-
system, Berlin, pp 674-916
- KALTER, H. 1968 Teratology of the CNS.
Univ. Chicago Press, Chicago
- KÖHLER, E., 1973 Effect of cyclophosphamid pretreat-
MERKER, H.J. ment of pregnant animals on the
activity of nuclear DNA-dependent
RNA-polymerase in different parts
of rat embryos.
Naunyn. Schmiedeberg Arch. Pharm.
277, pp 71-88

- | | | |
|---|------|---|
| KURY, G.S.,
CHARBO, S.,
MURPHY, M.L. | 1968 | Teratogenetic effects of some purin analogues on fetal rats.
Arch. Path. 86, pp 394-402 |
| LAHOUSSE, E. | 1888 | Recherches sur l'ontogenese du cervelet.
Arch. de Biol. 8, pp 43-110 |
| LANGMAN, J.,
WELCH, G. | 1966 | Effect of Vit. A on development of the CNS.
J. comp. Neur. 128, pp 1-16 |
| LANGMAN, J.,
GUERRANT, R.L.,
FREMAN, B.G. | 1966 | Behavior of neuroepithelcells during closure of the neuraltube.
J. comp. Neur. 127, p 399 |
| LANGMAN, J.,
WELCH, G.W. | 1967 | Excess Vit. A and development of the cerebral cortex.
J. comp. Neur. 131, pp 15-26 |
| LANGMAN, J. | 1968 | The Histogenesis of the CNS in: The structure and function of nervous tissue, Vol. 1, G.H. Bourne ed., Acad.Press, New York, pp 33-65 |
| LANGMAN, J. | 1970 | Lehrbuch der med. Embryologie, Kapitel 15 ZNS.
Thieme Taschenbuch, 1. Aufl., pp 280-330 |
| LANGMAN, J.,
SHIMADA, M. | 1971 | Cerebral cortex of the mouse after prenatal chemical insult.
Am. J. Anat. 132, pp 358-375 |
| LEA, M.A.,
SASOVETZ, D.,
MUSELLA, A.,
MORRIS, H.P. | 1970 | Effects of hydroxyurea and 6-MP on growth and some aspects of carbohydrate metabolism in regenerating and neoplastic liver.
Cancer Research 30, pp 1994-1999 |

- LEVINE, A.S., 1969 Combination therapy with 6-MP and
SHARP, H.L., Allopurinol during induction and
MITCHELL, J., maintenance of remission of akute
KRIVIT, W., leukemia in children.
NASBIT, M.E. Cancer chemotherapy report, Vol.53,
Nr.1, pp 53-57
- LUGARO, E. 1894 Über die Histogenese der Körner der
Kleinhirnrinde.
Anat. Anz. 9, pp 710-713
- MALAMUD, D., 1972 Inhibition of cellproliferation
GONZALEZ, C.M., by azathiopurine.
CHIA, R.A., Cancer Res. 32, pp 1226-1229
MALT, R.A.
- MERKER, H.J., 1975 The cytotoxic effects of 6-MP on
POSPISIL, M., the limb bud blastemal cells of rat
MEWES, P. embryos.
Teratology 2, pp 199-218
- MEWES, P., unpublished Effect of 6-MP on Nuclei-Acid De
BORCHERT, G., Novo synthesis and preformed
KROWKE, R. Pathways in rat embryos in vivo
- MEWES, P. 1971 Methode zur Bestimmung der RNA-
Synthese im embryonalen Säugetier-
gewebe und Untersuchungen über den
Einfluß von 6-MP und Cytosinarabinosid.
Inaugural Diss. FU Berlin
- MEWES, P., 1971 Effect of 6-MP on RNA-metabolim of
SIEBERT, G., rat embryos.
NEUBERT, D. Teratology 4, p 495 ff.
- MIALE, I., 1961 An autoradiographic study of histo-
SIDMAN, R. genesis in the mouse cerebellum.
Exp. Neur. 4, p 277 ff.

- | | | |
|---|------|---|
| MURPHY, M.L. | 1965 | Factors influencing teratogenetic response to drugs.
Teratology, Principles and Techniques
ed. J.G. Wilson, J. Warkany,
Chicago - London |
| NATHANSON, N.,
COLE, G.A.,
Van der LOOS, H. | 1969 | Heterotopic cerebellar granule cells following administration of cyclophosphamid to suckling rats.
Brain Res. 15, pp 532-536 |
| NELSON, M.M.,
ASLING, C.W.,
EVANS, H.M. | 1952 | Production of multiple congenital abnormalities in young by maternal pteroylglutamic acid deficiency during gestation.
J. Nutr. 48, pp 61-79 |
| NEUBERT, D.,
MERKER, H.J.,
KÖHLER, E.,
KROWKE, R.,
BARRAD, H.J. | 1970 | Biochemical aspects of teratology, in: Advances in the biosciences, ed. G. Raspeld, Pergamon Viewly, pp 575-622 |
| RAAF, J.,
KERNAHAN, J.W. | 1944 | A study of the external granular layer in the cerebellum.
Am. J. Anat. 75, pp 151 ff. |
| RAKIC, R. | 1971 | Neuron-glia relationships during granule cells migration in developing cerebellar cortex. A Golgi and electronmicroscopic study in Macacus rhesus.
J. comp. Neur. 62, pp 283-312 |
| RAKIC, P. | 1972 | Mode of cellmigration to the superficial layers of fetal monkey neocortex.
J. comp. Neur. 145, pp 61-84 |

- SAUER, F.C. 1935a Mitosis in the neuraltube.
J. comp. Neur. 62, pp 377-405
- SAUER, F.C. 1935b The cellular structure of the
neuraltube.
J. comp. Neur. 63, pp 13 ff.
- SAUER, M.E. 1959 DNS-content of cell nuclei in the
CHITTENDEN, A.C. neuraltube of the chick embryo:
Evidence for intermitotic migration
of nuclei.
Exp. cell. res. 16, pp 1-6
- SCHAPER, A. 1894 Die morphologische und histologische
Entwicklung des Kleinhirns der
Teleostier.
Anat. Anz. 9, pp 489-501;
Morph. Jahrbuch 21, pp 625-708
- SCHAPER, A. 1897 Die frühesten Differenzierungs-
vorgänge im ZNS.
Archiv für Entwickl.mechanik,
Bd. VII
- SCHWEICHEL, J.K., 1972 The morphology of various types of
MERKER, H.J. cell-death in prenatal tissues.
Teratology 7, pp 253-266
- SHIMADA, M. 1966 Cytokinetics and histogenesis of
early postnatal mouse brain as
studied by H₃-thymidine autoradio-
graphy.
Arch. Hist. Jap. 26, pp 413-437
- SHIMADA, M., 1970a Repair of the external granular layer
LANGMAN, J. of the Hamster cerebellum after
prenatal and postnatal administra-
tion of Methylazoxymethanol.
Teratology 3, pp 119-134

- SHIMADA, M., 1970b Repair of the external granular
LANGMAN, J. layer after postnatal treatment
with 5 Fluorodeoxyuridine.
Am. J. Anat. 129, pp 247-260
- SIDMAN, R.L., 1959 Cellproliferation and migration in
MIALE, I.L., the primitive ependymal zone, an
FEDER, N. autoradiographic study of histo-
genesis in the nervous system.
Ex. Neural. 1, pp 322
- SIDMAN, R.L., 1960 The histogenesis of the mouse
MIALE, I.L. cerebellum studies by autoradio-
graphy with tritiated thymidine.
Anat. Rec. 133, pp 429-430
- SMART, J., 1961 Evidence for division and trans-
LEBLOND, C.P. formations of neuroglia cells in
the mouse brain, as derived from
radioautography after injection
of thymidine H₃.
J. comp. Neur. 116, pp 349 ff.
- STENSAAS, L.J., 1968 An electromicroscope study of
STENSAAS, S.S. cells in the matrix and inter-
mediate laminae of the cerebral
hemisphere of the 44 mm rabbit
embryo.
Z. Zellforschung 91, pp 341-365
- TAYLOR, J.H., 1962 Effects of Fluorodeoxyuridine on
HART, W.F., DNA replication, chromosome
TUNG, J. breakage and reunion.
Proc. Nat. Acad. Sci. 48, pp 190-198
- THEILER, K. 1972 The House Mouse.
Development and normal stages from
fertilization to 4 weeks of age.
Springer Verlag, 1. Auflage

- TUCHMANN-
DUPLESSIS, H.,
MERCIER-PAROT, L. 1966 Reactions provoquées chez l'embryon
par deux antimétabolites chimique-
ment voisins.
Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss. 22
- UZMAN, L. 1960a The development of neonatal mouse
cerebellum studied by tritiated
thymidine uptake.
J. Neuropath. 19, pp 146-147
- UZMAN, L. 1960b The histogenesis of the mouse cere-
bellum as studied by tritiated
thymidine autoradiography.
J. comp. Neur. 114, pp 137-159
- WAECHTER, v.R.,
JAENSCH, B. 1972 Generation times of matrix cells
during embryonic brain development,
an autoradiography study in rats.
Brain Re. 46, pp 235-250
- WEBSTER, D.A.,
GROSS, J. 1970 Studies on the possible mechanism
of programmed cell death in chick
embryo.
Dev. Biol. 22, pp 157-184
- WEBSTER, W.,
SHIMADA, M.,
LANGMAN, J. 1973 Effect of 5-Fluorodeoxyuridine,
Colcemid and Bromodeoxyuridine on
developing neocortex of the mouse.
Am. J. Anat. 137, pp 67-86
- WILLIAMS, J.P.G.,
CARPENTIERI, V. 1967 The different response of embryonic
and adult rats to demecolcin.
Life Sciences 6, pp 2613-2620
- ZUNIN, C.,
BORRONE, C. 1955 L'effet to teratogeno della 6-MP.
Minerva Parl. 7, pp 66-71

Rattenembryo Tag 12

Abb. 1a: Mediansagittalschnitt

T: Telencephalon, D: Diencephalon, M: Mesencephalon,
R: Rhombencephalon, C: Cerebellum

Vergr.: 38-fach

Abb. 1b: Ausschnitt aus 1a

M: Mesencephalon, C: Cerebellum, TC: Tela choroidea
des 4. Ventrikels

Vergr.: 120-fach

Abb. 1c: Ausschnitt aus 1a

M: Mesencephalon - Grenze Mesencephalin/Cerebellum,
C: Cerebellum

Vergr.: 300-fach

Abb. 1d: Mediolateralschnitt

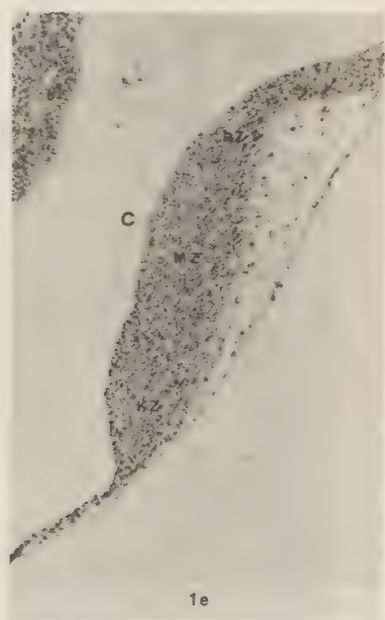
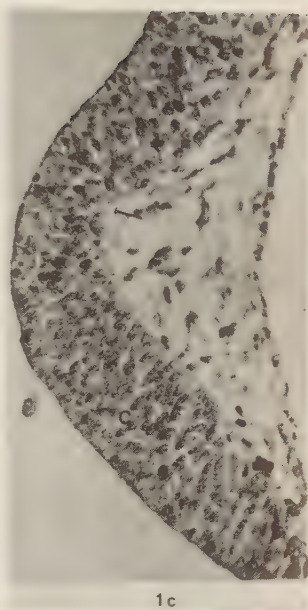
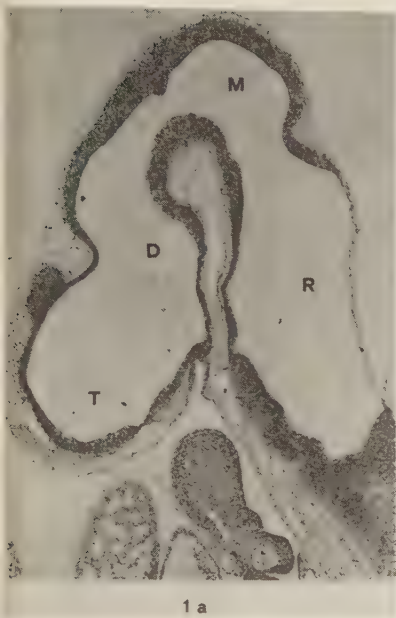
T: Telencephalon, D: Diencephalon, M: Mesencephalon,
R: Rhombencephalon, C: Cerebellum

Vergr.: 48-fach

Abb. 1e: Ausschnitt aus 1d

C: Cerebellum, KZ: Kaudale Zwischenzone,
M: Mittelzone, RZ: Rostrale Zwischenzone

Vergr.: 120-fach



Rattenembryo Tag 12

Abb. 2a: Lateralschnitt

T: Telencephalon, R: Rhombencephalon, C: Cerebellum
Vergr.: 48-fach

Abb. 2b: Ausschnitt aus 2a

C: Cerebellum, RS: Randschleier, TC: Telachoroidea
des 4. Ventrikels
Vergr.: 120-fach

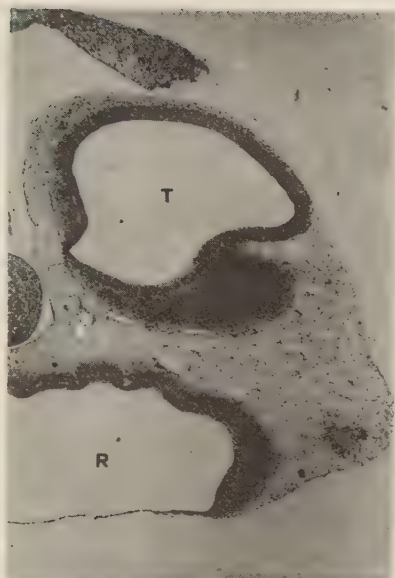
Rattenembryo Tag 13

Abb. 2c: Medianschnitt

C: Cerebellum - Sulcus cerebellomesencephali,
M: Mesencephalon
Vergr.: 120-fach

Abb. 2d: Ausschnitt aus 2c

- Sulcus cerebellomesencephali
Vergr.: 480-fach



2a



2b



2c



2d

Rattenembryo Tag 14

Abb. 3a: Mediansagittalschnitt

M: Mesencephalon, R: Rhombencephalon, C: Cerebellum,

TC: Telachoroidea des 4. Ventrikels

Vergr.: 30-fach

Abb. 3b: Ausschnitt aus 3a

M: Mesencephalon, KZ: Kaudale Zwischenzone,

M: Mittelzone, RZ: Rostrale Zwischenzone - Sulcus
cerebellomesencephali

Vergr.: 120-fach

Abb. 3c: Lateralschnitt

C: Cerebellum

Vergr.: 48-fach

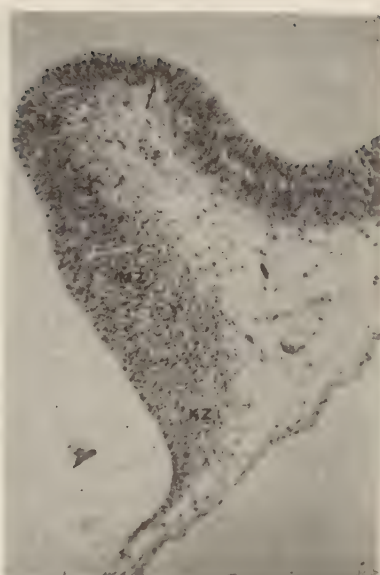
Abb. 3d: Ausschnitt aus 3c

VZ: Ventrikulärzone, IZ: Intermediärzone

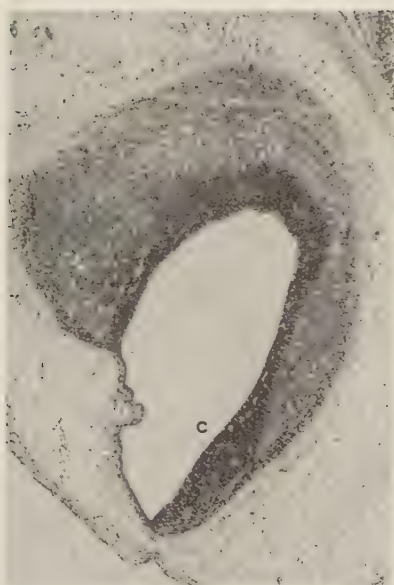
Vergr.: 120-fach



3 a



3 b



3 c



3 d

Rattenembryo Tag 15

Abb. 4a: Medianschnitt

M: Mesencephalon, C: Cerebellum

Vergr.: 30-fach

Abb. 4b: Ausschnitt aus 4a

C: Cerebellum

Vergr.: 120-fach

Abb. 4c: Ausschnitt aus 4a

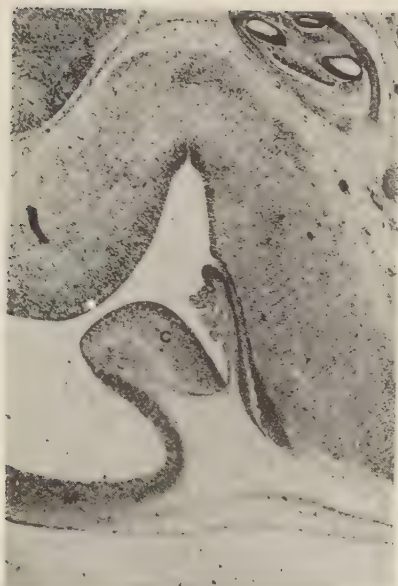
V: Ventrikulärzone, I: Intermediärzone, E: EGL

Vergr.: 300-fach

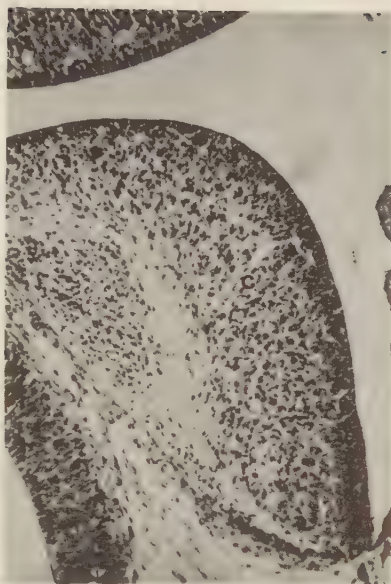
Abb. 4d: Mediolateralschnitt

E: EGL

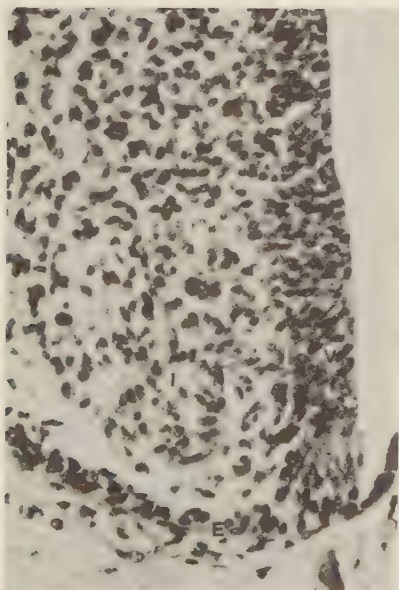
Vergr.: 120-fach



4 a



4 b



4 c



4 d

Rattenembryo Tag 15

Abb. 5a: Querschnitt

R: Rhombencephalon, C: Cerebellum, T: Telencephalon

Vergr.: 12-fach

Abb. 5b: Lateralschnitt

C: Cerebellum, E: EGL

Vergr.: 30-fach

Rattenembryo Tag 16

Abb. 5c: Mediansagittalschnitt

T: Telencephalon, D: Diencephalon, M: Mesencephalon,

R: Rhombencephalon, C: Cerebellum

Vergr.: 19-fach

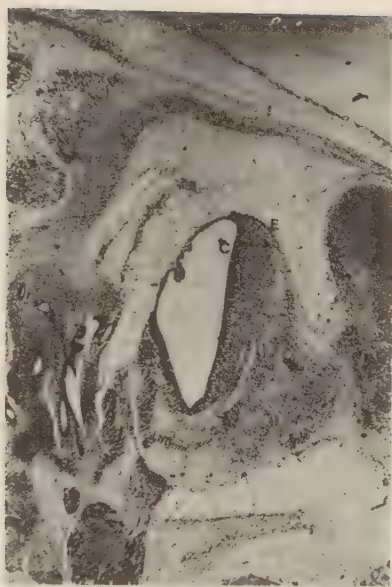
Abb. 5d: Ausschnitt aus 5c

M: Mesencephalon, C: Cerebellum - Sulcus cerebellomesencephali

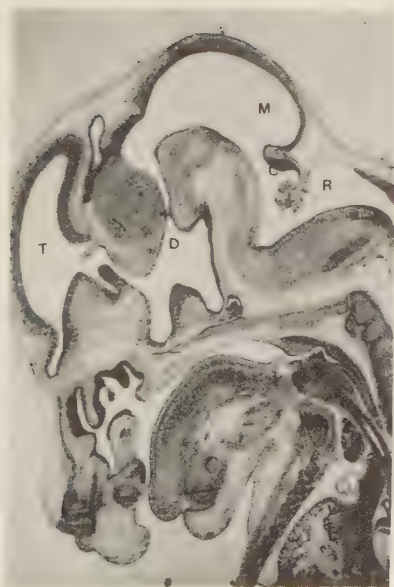
Vergr.: 48-fach



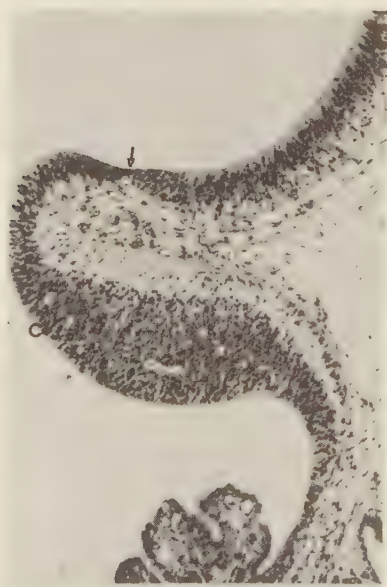
5a



5b



5c



5d

Rattenembryo Tag 16

Abb. 6a: Lateralschnitt

M: Mesencephalon, C: Cerebellum

Vergr.: 30-fach

Abb. 6b: Ausschnitt aus 6a

VZ: Ventrikulärzone, IZ: Intermediärzone, E: EGL

I: IGL

Vergr.: 120-fach

Abb. 6c: Ausschnitt aus 6a

VZ: Ventrikulärzone, E: EGL

Vergr.: 480-fach

Rattenembryo Tag 17

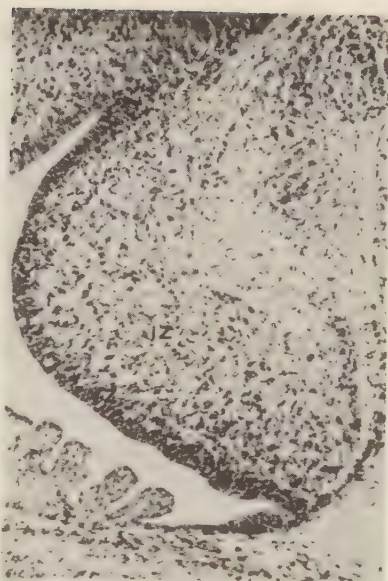
Abb. 6d: Medianschnitt

M: Mesencephalon, C: Cerebellum

Vergr.: 12-fach



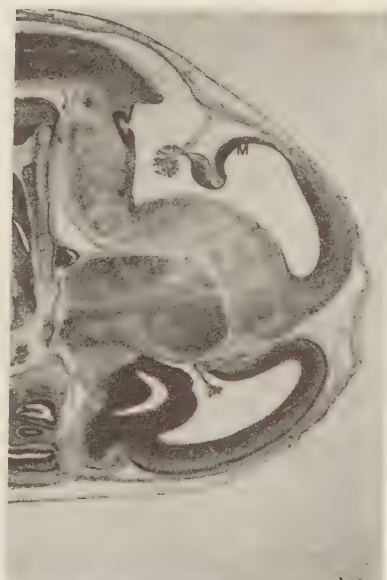
6 a



6 b



6 c



6 d

Rattenembryo Tag 17

Abb. 7a: Medianschnitt

V: Ventrikulärzone, M: Molekularschicht, E: EGL

Vergr.: 120-fach

Abb. 7b: Mediolateralschicht

C: Cerebellum, E: EGL, I: IGL

Vergr.: 30-fach

Abb. 7c: Lateralschnitt

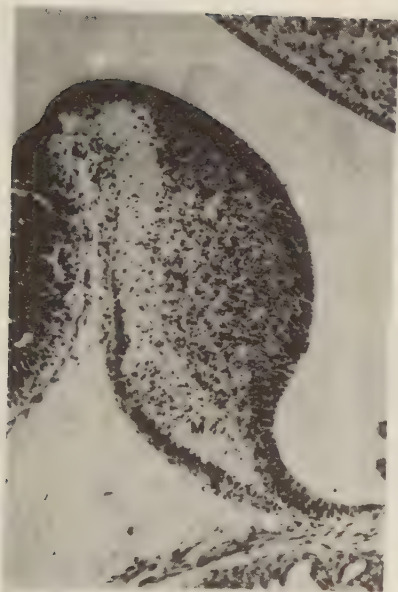
C: Cerebellum

Vergr.: 30-fach

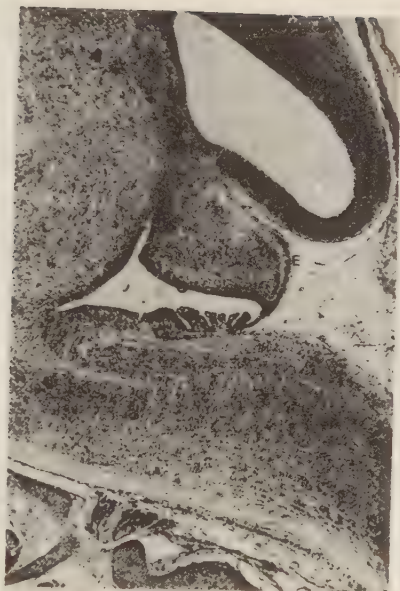
Abb. 7d: Ausschnitt aus 7c

E: EGL, I: IGL, IZ: Intermediärzone, P: Proliferationszentrum am Telaansatz des Plexus choroideus des 4. Ventrikels

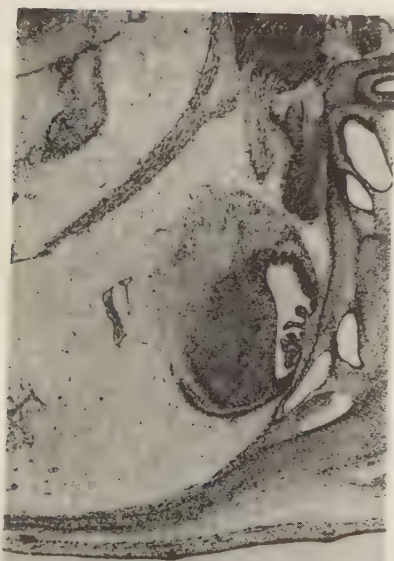
Vergr.: 300-fach



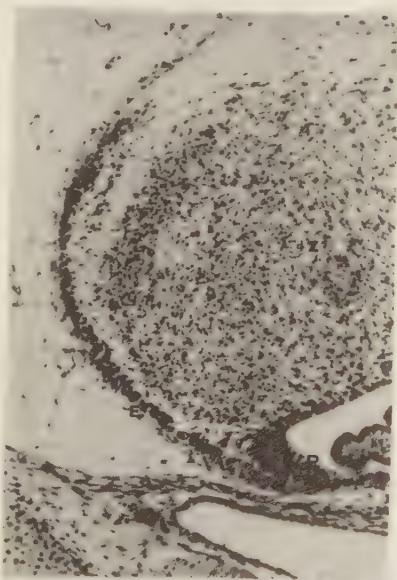
7a



7b



7c



7d

Rattenembryo Tag 18

Abb. 8a: Medianschnitt

C: Cerebellum, M: Mesencephalon

Vergr.: 38-fach

Abb. 8b,c: Ausschnitt aus 8a

E: EGL, M: Molekularschicht, I: IGL,

V: Ventrikulärzone

Vergr.: 120-fach

Abb. 8d: Lateralschnitt

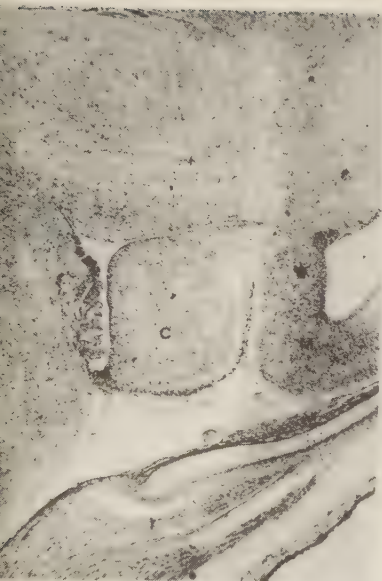
C: Cerebellum

Vergr.: 48-fach

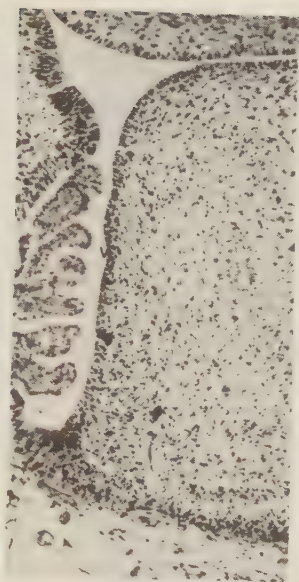
Abb. 8e: Lateralschnitt

V: Ventrikulärzone, E: EGL, P: Proliferations-
zentrum

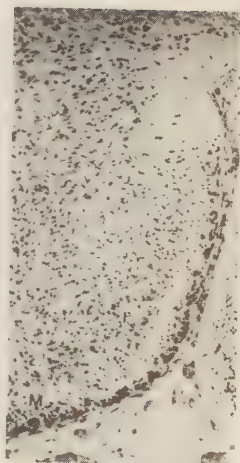
Vergr.: 300-fach



8a



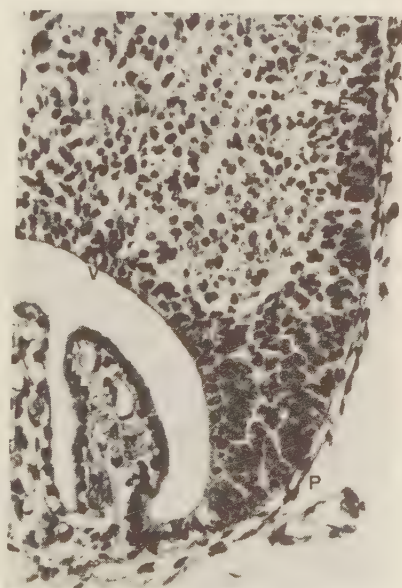
8b



8c



8d



8e

Rattenembryo Tag 19

Abb. 9a: Medianschnitt

C: Cerebellum, P: Plexus choroideus des 4. Ventrikels

Vergr.: 48-fach

Abb. 9b: Mediolateralschnitt

M: Mesencephalon, C: Cerebellum

Vergr.: 38-fach

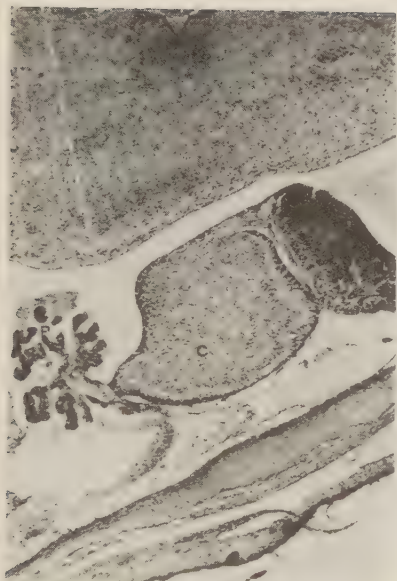
Abb. 9c: Lateralschnitt

C: Cerebellum

Vergr.: 38-fach

Abb. 9d: Ausschnitt aus 9c

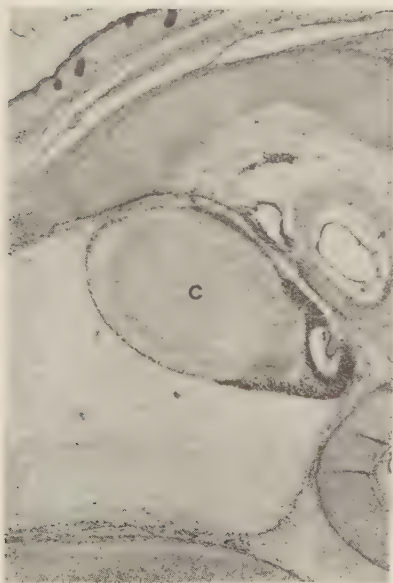
Vergr.: 153-fach



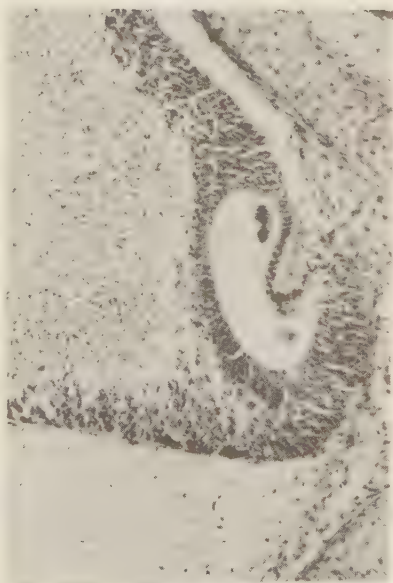
9a



9b



9c



9d

Rattenembryo Tag 20

Abb. 10a: Medianschnitt

C: Cerebellum

Vergr.: 15-fach

Abb. 10b: Ausschnitt aus 10a

C: Cerebellum, M: Mesencephalon

Vergr.: 48-fach

Abb. 10c: Ausschnitt aus 10a

E: EGL, M: Molekularschicht, I: IGL

(I): mangelnde IGL-Ausbildung

Vergr.: 192-fach

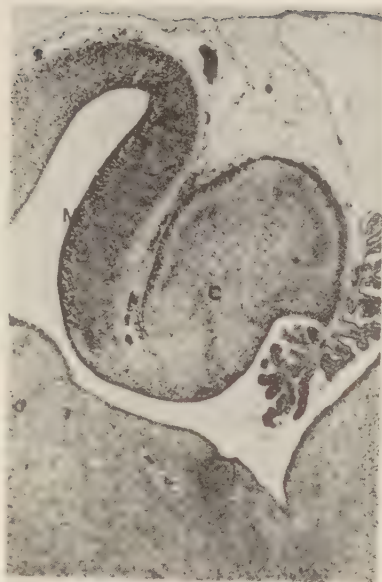
Abb. 10d: Lateralschnitt

C: Cerebellum

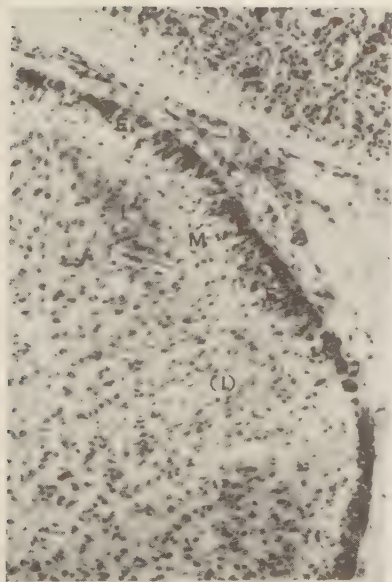
Vergr.: 48-fach



10 a



10 b



10 c



10 d

Rattenembryo Tag 12 + 48 Std. p.i. 6-MP

Abb. 11a: Medianschnitt

N: Nekrose, ZD: Zelldetritus, KP: Kernpyknose,

KR: Karyorhexis

Vergr.: 300-fach

Abb. 11b: Medialschnitt

Vergr.: 120-fach

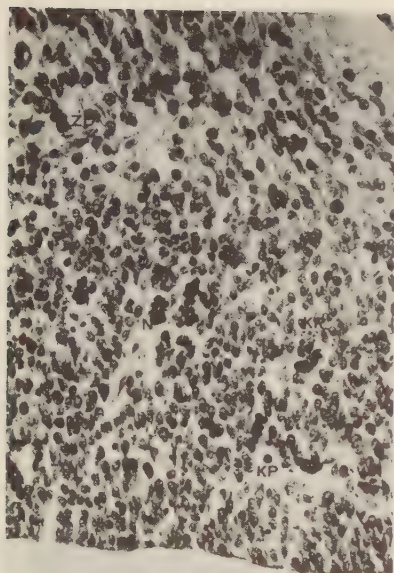
Abb. 11c: Medianschnitt

N: Nekrose

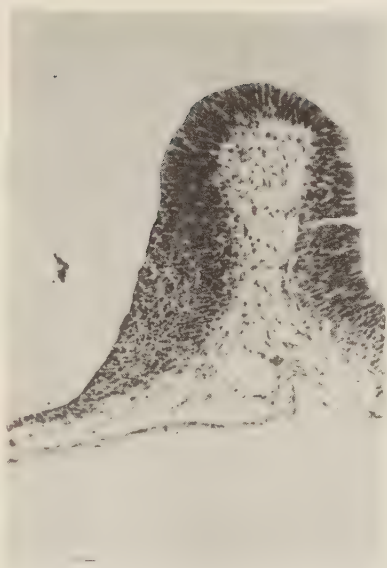
Vergr.: 300-fach

Abb. 11d: Lateralschnitt

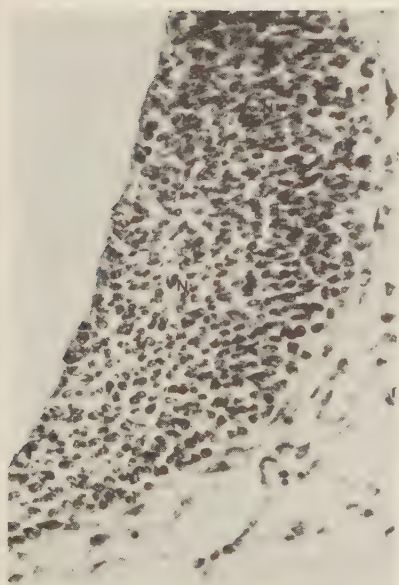
Vergr.: 120-fach



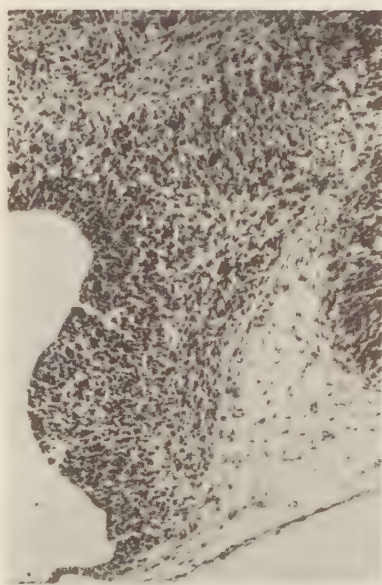
II a



II b



II c



II d

Rattenembryo Tag 12 + 48 Std. p.i. 6-MF

Abb. 12a: Lateralschnitt

N: Nekrose

Vergr.: 120-fach

Rattenembryo Tag 13 + 48 Std. p.i. 6-MF

Abb. 12b: Mediolateralschnitt

VZ: Ventrikulärzone, IZ: Intermediärzone, N: Nekrose

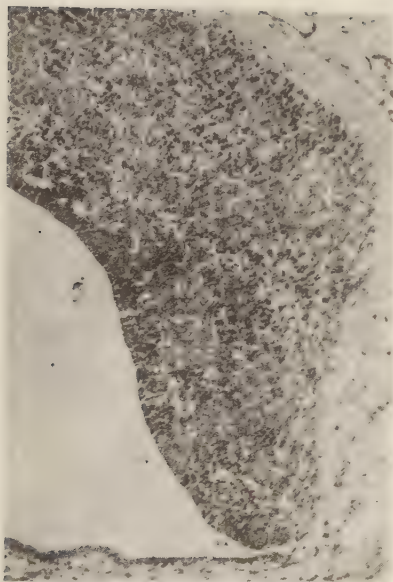
Vergr.: 300-fach

Abb. 12c: Medianschnitt

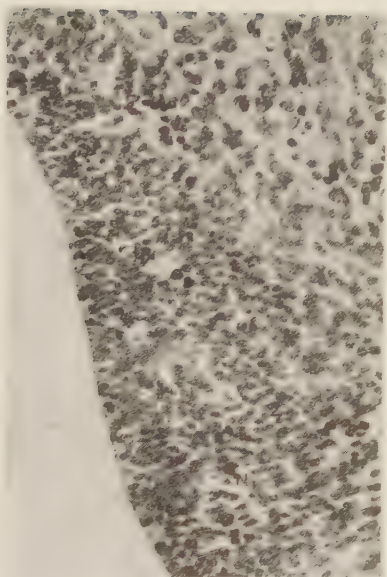
Vergr.: 480-fach

Abb. 12d: Mediolateralschnitt

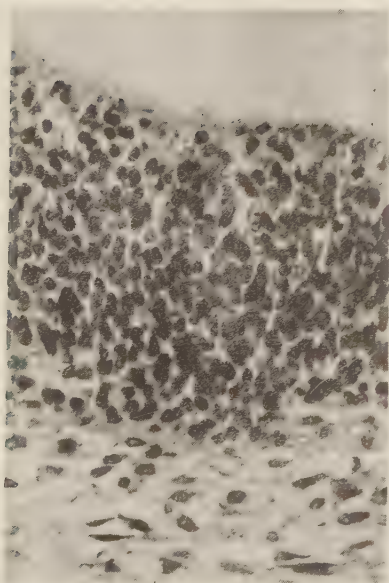
Vergr.: 300-fach



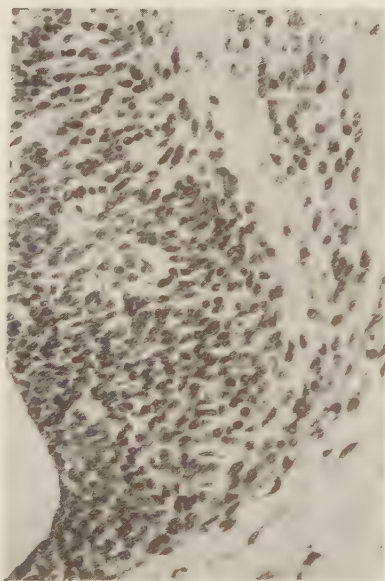
12a



12b



12c



12d

Rattenembryo Tag 13 + 48 Std. p.i. 6-MP

Abb. 13a: Medianschnitt

Vergr.: 300-fach

Rattenembryo Tag 13 + 24 Std. p.i. 6-MP

Abb. 13b: Mediolateralschnitt

(E): EGL fehlt

Vergr.: 300-fach

Rattenembryo Tag 14 + 48 Std. p.i. 6-MP

Abb. 13c: Medianschnitt

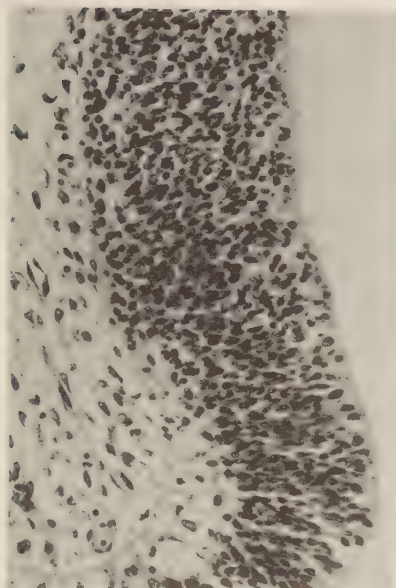
E: EGL

Vergr.: 120-fach

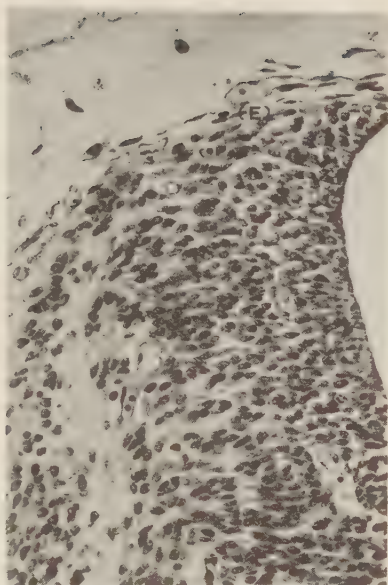
Abb. 13d: Mediolateralschnitt

E: EGL

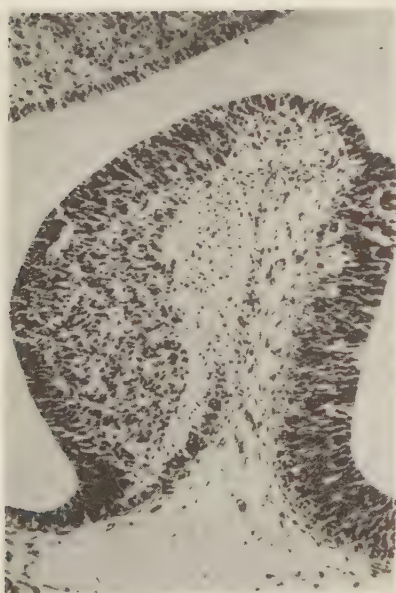
Vergr.: 120-fach



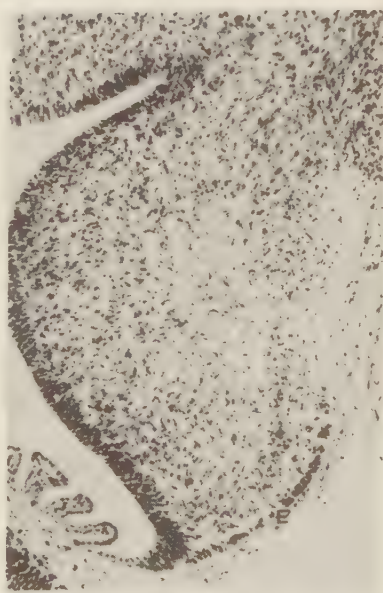
13a



13b



13c



13d

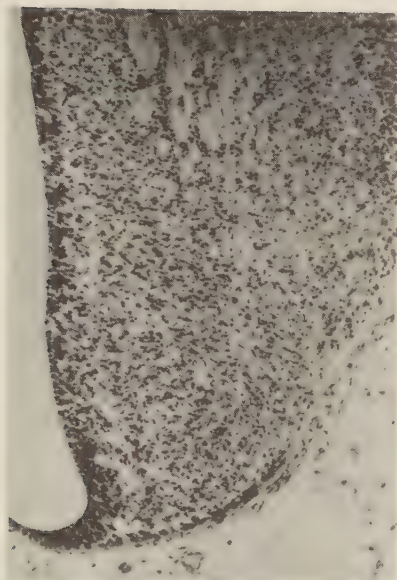
Rattenembryo Tag 14 + 48 Std. p.i. 6-MP

Abb. 14a: Lateralschnitt
Vergr.: 120-fach

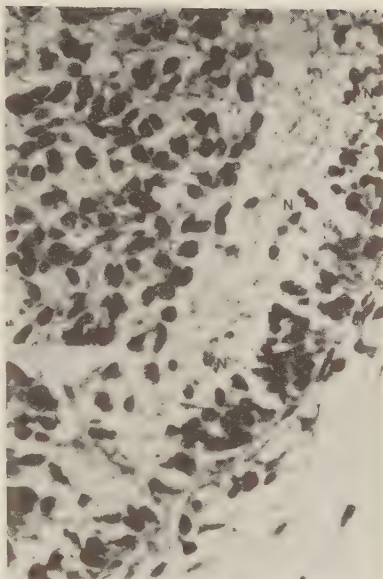
Abb. 14b: Ausschnitt aus 14a - Rostraler EGL-Anteil
N: Nekrose
Vergr.: 480-fach

Abb. 14c: Dorsokaudaler Cerebellumbereich
IZ: Intermediärzone, N: Nekrose
Vergr.: 300-fach

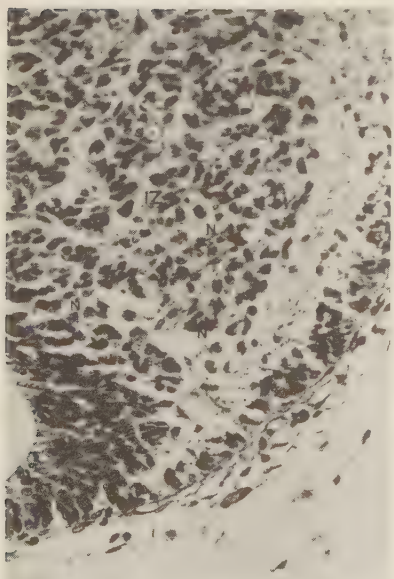
Abb. 14d: Dorsokaudaler Cerebellumbereich
IGL: internal granular layer, N: Nekrose
Vergr.: 300-fach



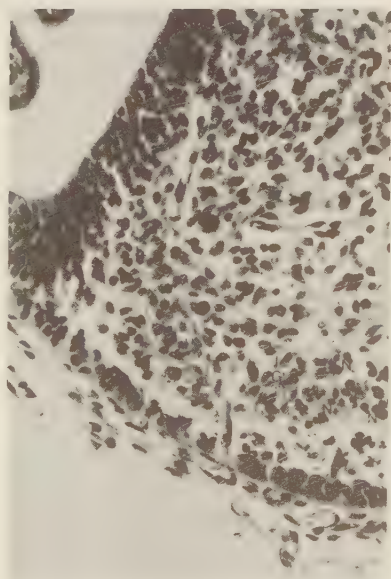
14 a



14 b



14 c



14 d

Rattenembryo Tag 15 + 48 Std. p.i. 6-MP

Abb. 15a: Medianschnitt

E: EGL, I: IGL

Vergr.: 120-fach

Abb. 15b: Ausschnitt aus 15a: Kaudodorsaler Cerebellum-
bereich

E: EGL, I: IGL, N: Nekrose

Vergr.: 300-fach

Abb. 15c: Ausschnitt aus 15a: Rostrodorsaler Cerebellum-
bereich

E: EGL, I: IGL, N: Nekrose

Vergr.: 300-fach

Rattenembryo Tag 16 + 48 Std. p.i. 6-MP

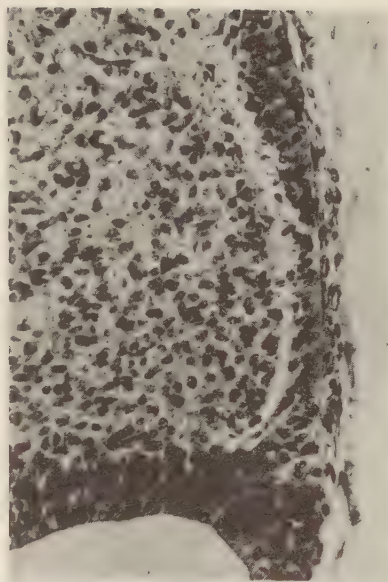
Abb. 15d: Medianschnitt

E: EGL, V: Ventrikulärzone

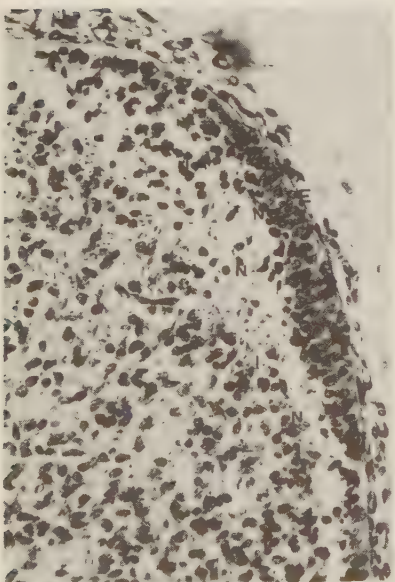
Vergr.: 120-fach



15a



15b



15c



15d

Rattenembryo Tag 16 + 48 Std. p.i. 6-MP

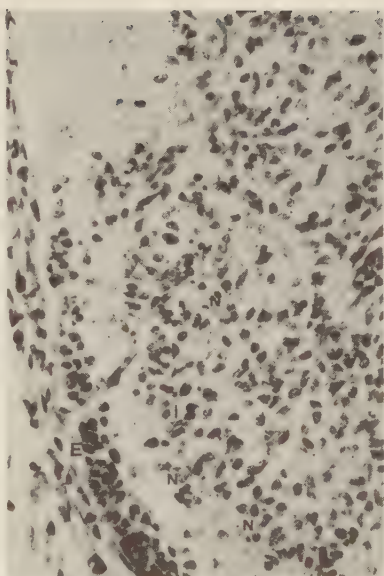
Abb. 16a/b: Ausschnitt aus 15d: Rostrodorsaler EGL-Bereich
E: EGL, I: IGL, N: Nekrose, M: Molekularschicht
Vergr.: 300-fach

Abb. 16c: Ausschnitt aus 15d: EGL-Bereich in der
Mittelzone
E: EGL, I: IGL, N: Nekrose
Vergr.: 300-fach

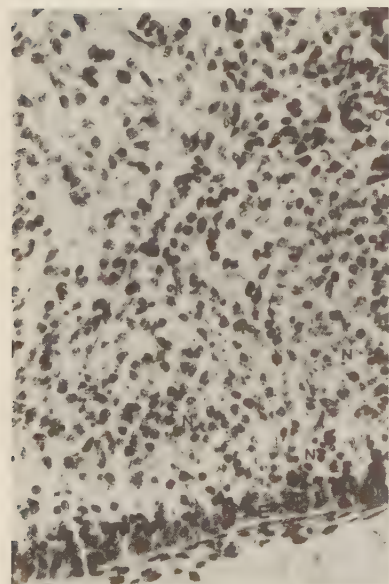
Abb. 16d: Ausschnitt aus 15d: Kaudodorsaler EGL-Bereich
E: EGL, V: Ventrikulärzone, N: Nekrose
Vergr.: 300-fach



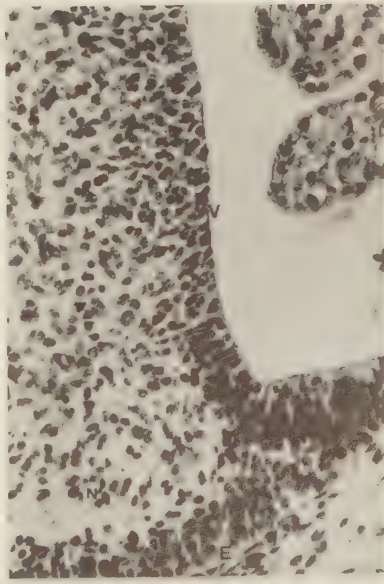
16a



16b



16c



16d

Rattenembryo Tag 17 + 48 Std. p.i. 6-MP

Abb. 17a: Medianschnitt

E: EGL, I: IGL, IZ: Intermediärzone, V: Ventrikulärzone

Vergr.: 120-fach

Abb. 17b: Ausschnitt aus 17a: Mittelzonenbereich

E: EGL, N: Nekrose

Vergr.: 300-fach

Abb. 17c: Ausschnitt aus 17a: Rostrodorsaler Cerebellumbereich

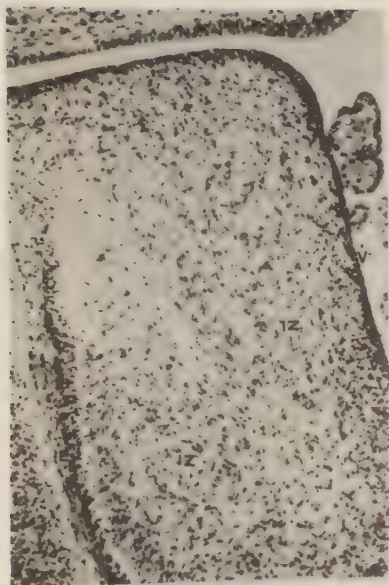
I: IGL, N: Nekrose

Vergr.: 300-fach

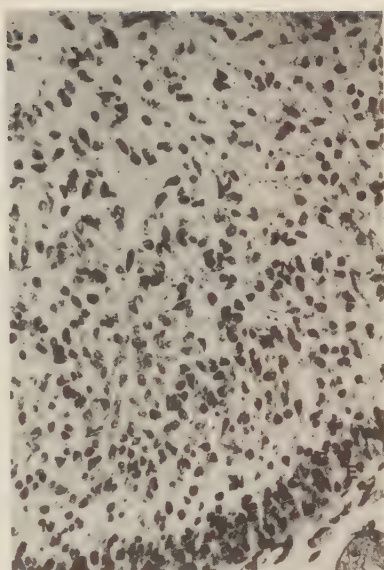
Abb. 17d: Ausschnitt aus 17a: Mittelzonenbereich

E: EGL, I: IGL, N: Nekrose

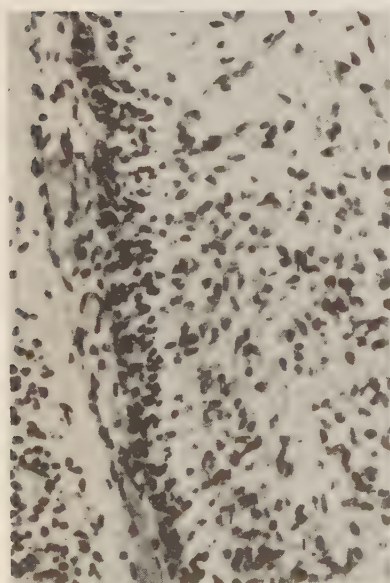
Vergr.: 480-fach



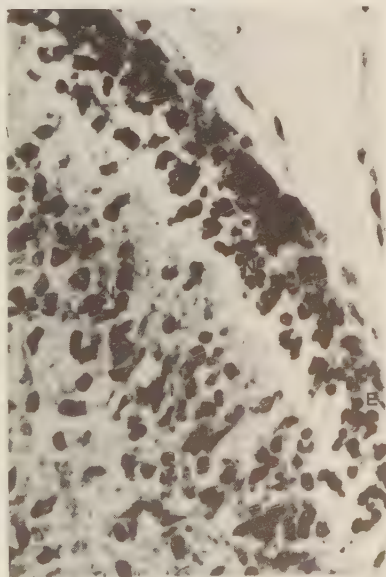
17a



17b



17c



17d

Rattenembryo Tag 18 + 48 Std. p.i. 6-MP

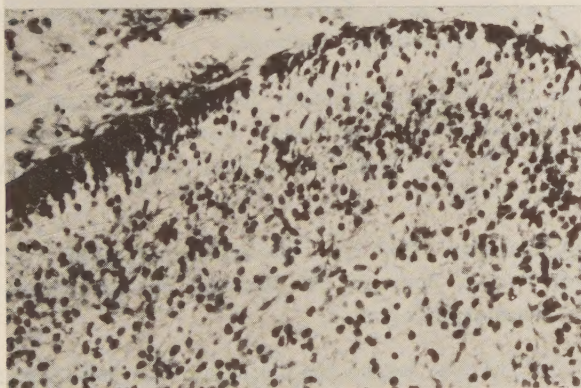
Abb. 18a: Medianschnitt
Vergr.: 120-fach

Abb. 18b: Ausschnitt aus 18a: Rostrodorsaler Cerebellum-
bereich
Vergr.: 300-fach

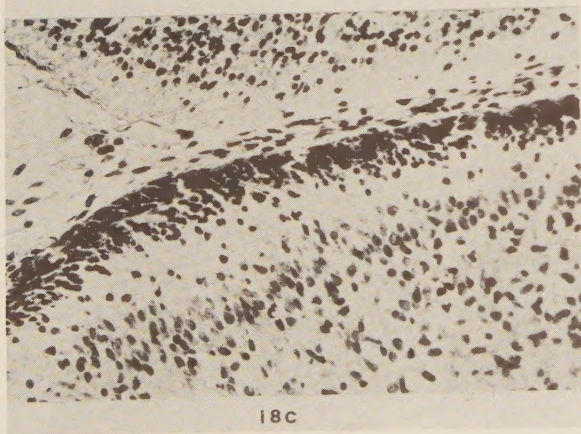
Abb. 18c: Ausschnitt aus 18a: Mittelzonenbereich
Vergr.: 300-fach



18a



18b



18c

LEBENS LAUF

Am 26.7.1950 wurde ich als Sohn des Kaufmännischen Angestellten Karl Wagner und seiner Ehefrau Alice, geb. Simmich, in Aalen/Kreis Aalen geboren.

Nach vierjähriger Grundschulzeit besuchte ich ab 1961 das Württemberg-Gymnasium in Stuttgart-Untertürkheim, wo ich im Sommer 1969 das Abitur bestand.

Mit Beginn des Wintersemesters 1969/70 nahm ich das Studium der Humanmedizin an der Eberhard Karl Universität Tübingen auf, der ich bis zur ärztlichen Vorprüfung im Wintersemester 1971/72 angehörte.

Vom Sommersemester 1972 bis zum Sommersemester 1975 studierte ich an der Freien Universität Berlin, wo ich im August 1975 das Staatsexamen ablegte.

Zur Zeit leiste ich meine Pflichtzeit als Medizinalassistent ab.

Ich bin mit Gabriele Wagner, geb. Huber, verheiratet.

